T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GALA GÖLÜNDEKİ BALIK TÜRLERİNDE BULUNAN ARSENİK İÇERİĞİNİN HİDRÜR OLUŞTURMALI ATOMİK ABSORPSİYON VE GRAFİT FIRIN ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRE İLE TAYİNİ

NİLGÜN DAĞDELEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

YRD. DOÇ. DR. YILDIZ KALEBAŞI

EDİRNE-2013

GALA GÖLÜNDEKİ BALIK TÜRLERİNDE BULUNAN ARSENİK İÇERİĞİNİN HİDRÜR OLUŞTURMALI ATOMİK ABSORPSİYON VE GRAFİT FIRIN ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRE İLE TAYİNİ

NİLGÜN DAĞDELEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANA BİLİM DALI

2013

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Ayten SAĞIROĞLU
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd.Doç.Dr.Yıldız KALEBAŞI
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Kimya Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri : İmza

Doç.Dr. Gülay ŞEREN

Doç.Dr. Hüseyin GÜHER

Yrd.Doç.Dr.Yıldız KALEBAŞI

Tarih: 23/10/2013

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

-- / -- / 2013

Nilgün DAĞDELEN

Yüksek Lisans Tezi
Gala gölündeki balık türlerinde bulunan arsenik içeriğinin hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometre ile tayini
T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmanın ilk üç bölümünde, ağır metaller, balıkta ağır metal birikimi, arseniğin özellikleri, arsenik tayinin önemi, eser element ve zenginleştirme metotlarından bahsedilmiştir.

Çalışmanın dördüncü bölümü deneysel çalışmalar üzerinedir. Bu bölümde çalışmada kullanılan cihazlar, kimyasallar ve balık türünün özellikleri tanımlanmıştır. Kefal balığı (*Liza ramada,* 1827), Gala Gölü'nden (Enez) profesyonel balıkçılar tarafından yakalanmış ve aynı gün buz kabı içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Parçalama işleminden önce balıkların boyu ve ağırlığı ölçülmüştür. Balık örneklerinden 1.0 g alınarak, 6 mL HNO_3 (%65) ve 2 mL H_2O_2 (%30) ilavesi ile mikrodalga çözünürleştirme sisteminde çözülmüş ve 20 mL'ye destile su ile seyreltilmiştir. Mikrodalga çözünürleştirmenin klasik yöntemlere göre, daha kısa zamanda çözünürleştirmenin olması ve çözeltide uçucu bileşikleri tutması gibi avantajları vardır.

Çalışmanın son bölümünde, grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometre (GFAAS) ve hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometre (HGAAS) yöntemleri ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. İki yöntemin sonuçlarının, birbiriyle ve literatürle uyumlu olduğu bulunmuştur. Kefal balığının (Liza ramada, 1827) kasında ölçülen arsenik seviyelerinin, insan tüketimi için yasal limitlerin altında olduğu belirlenmiştir.

Yıl **: 2013**
Sayfa Sayısı **: 95**
Anahtar Kelimeler **: *Liza ramada*, Arsenik, Mikrodalga, HGAAS, GFAAS**

Master Thesis

The determination of the accumulation of arsenic in fish species in Saroz gulf with hydride generation and graphite furnace atomic absorption spectrometer

Trakya University Institute of Natural Sciences

Department of Chemistry

ABSTRACT

In the first three sections of this study, heavy metals, accumulation of heavy metals in fish, properties of arsenic, importance of arsenic determination, trace element and enrichment methods were described.

The fourth part of the thesis is about experimental. In this section apparatus, chemicals and the characteristics of the fish species used in this study were defined. The Thinlip grey mullet (*Liza ramada*, 1827)used in this study were sampled from the Gala Lake (Enez) by professional fishermen in the same day of capture and transported to the laboratory on ice immediately. The size and weight of each fishes were measured before dissection. Fish samples (1.0 g) were digested with 6 mL of HNO_3 (65%), 2 mL of H_2O_2 (30%) in microwave digestion system and diluted to 20 mL deionized water. The advantages of microwave digestion against the classical method are the shorter time and keeping volatile compounds in the solution.

In the last chapter of the study, the results which achieved by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) and hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS) were compared. The results of two methods are found to be compatible with each other and literature. The arsenic levels found in muscle inThinlip grey mullet(*Liza ramada*, 1827)were below the legal limits for human consumption.

Year : **2013**

Number of Pages : **95**

Keywords : ***Liza ramada*, Arsenic, Microwave, HGAAS, GFAAS**

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince, bu tezin oluşum ve yönetim aşamalarında yardımlarını ve desteğini benden esirgemeyen, çalışmalarımda her türlü olanağı sağlayan danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Yıldız KALEBAŞI'na sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tüm tez çalışmam boyunca bilimsel desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Gülay ŞEREN hocama teşekkür ederim.

Bu tezin tamamlanmasında bana yardım eden ve hep yanımda olan Sayın Olcay ŞİRİN , Mümin ŞENTÜRK, Hasan KURNAZ ve Yusuf KAYAALP'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu güne kadar bana her türlü desteği sağlayan ve kararlarımda her zaman yanımda olan başta canım anneme, aileme, tekrar Yrd. Doç. Dr. Yıldız KALEBAŞI hocama beni yetiştiren tüm hocalarıma da teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
TABLOLAR DİZİNİ viii
SİMGELER DİZİNİ ix
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2 3
AĞIR METALLER 3
2.1. Ağır Metaller İle İlgili Bazı Önemli Özellikler 5
2.2. Ağır Metal Kirliliğine Yol Açan Kaynaklar 6
2.3. Ağır Metallerin Zehirliliğini Etkileyen Etmenler 8
2.4. Ağır Metallerin Balık Tarafından Alınması 8
2.5. Ağır Metallerin Balıkta Birikimi 10
2.6. Tez Çalışmasında İncelenen Eser Element 10
2.6.1 Arseniğin özellikleri 10
2.6.2 Arsenik kaynakları 12
2.6.3 Arseniğin Eldesi 13
2.6.4 Arseniğin toksik etki mekanizması 13
2.6.5 Arsenik düzeyi ölçüm yöntemleri 14
BÖLÜM 3 18
ESER ELEMENTLER 18
3.1. Eser Elementler Ve Önemi 18
3.2. Biyolojik Örneklerde Eser Elementler 20
3.3. Eser Element Tayinlerinde Önem Taşıyan Bazı Genel Kavramlar 22
3.4. Eser Elementlerin Zenginleştirme Yöntemleri 24
3.5. Numune Parçalama Yöntemleri 26

3.5.1 İnorganik asitlerle parçalama 26
3.5.2 Yakma yöntemleri 27
3.5.3 Eritiş ile parçalama 28
3.5.4 Mikrodalga ile parçalama 29
3.6. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi 30
3.6.1Absorpsiyonun temel kuralları 31
3.6.2 Atomik spektrum ve hat genişlemesi 32
3.7 Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi (AAS) 32
3.7.1.Işın kaynakları 34
3.7.2 Atomlaştırıcılar 38
3.7.3. Monokromatörler 46
3.7.4 Dedektörler 46
3.8 Atomik Absorpsiyon Spektrometrisinde Kantitatif Analiz 47
3.8.1 Lineer kalibrasyon yöntemi 47
3.8.2 Standart ekleme yöntemi 47
3.9 GFAAS'de Girişimler 48
3.9.1 Spektral girişimler ve düzeltilmeleri 48
3.9.2 Spektral olmayan girişimler 54
3.10. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HGAAS) 56
3.10.1. Doğrudan transfer hidrür oluşturma yöntemleri 60
3.10.2. HGAAS yönteminde kullanılan atomlaştırıcılar 60
3.10.3 Hidrürün atomlaşma mekanizması 64
3.10.4 Hidrür oluşturmalı AAS yönteminde girişimler 64
BÖLÜM 4 68
MATERYAL VE METOT 68
4.1. Gala Gölü ve Çevresindeki Alanın Genel Özellikleri 68
4.2. Numunelerin toplanması ve hazırlanması 70
4.2.1 Numunelerin toplanması 70
4.2.2 Numunelerin hazırlanması 71

4.2.3 Tez çalışmasında incelenen balık türü, ... 71

BÖLÜM 5 73

5.1. Numunelerin Hazırlanması 73

5.2. Numunelerin Çözünürleştirmesi 74

5.3. GFAAS'de Yapılan Analiz Sonuçları 78

5.4. HGAAS' de Yapılan Analiz Sonuçları 79

5.5. Balık Numunelerinde As Derişiminin GFAAS ve HGAAS Sonuçları Açısından Karşılaştırılması 81

Kaynakça 88

H. J. Lauri P. Lajunen, *Perämäki pectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. 1992 92

[66] F. D. Pierce H. R. Brown *Comparison of inorganic interferences in atomic absorption spectrometric determination of arsenic and selenium Anal. Chem.* 69, 1977. 94

ÖZGEÇMİŞ 95

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 Ağır Metallerin Doğal Döngüsü 5
Şekil 2. 2. Ağır metalin su ortamında izlediği yol 6
Şekil 2. 3. Bazı önemli arsenik bileşikleri ve pKa değerleri 13
Şekil 2. 4. Arseniğin toksik etki mekanizması 13
Şekil 3. 1. Bir temel element için doz-tepki eğrisi 20
Şekil 4. 1. Gala gölünün haritada gösterimi 68
Şekil 4. 2. Kefal Balığı 72
Şekil 4. 1. Gala gölünün haritada gösterimi 27
Şekil 4. 2. Liza Ramada (Risso 1827) genel görünüşü 31
Şekil 5. 1. Mikrodalga çözünürleştirme sistemi 74
Şekil 5. 2. Külleme sıcaklığı optimizasyonu 76
Şekil 5. 3. Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu 77
Şekil 5. 4. GFAAS yöntemiyle bulunan As içeriklerinin organlara göre dağılımı 79
Şekil 5. 5. HGAAS yöntemiyle bulunan As içeriklerinin organlara göre dağılımı 81
Şekil 5. 6. Solungaç için iki yöntemin karşılaştırılması 83
Şekil 5. 7. Kas için iki yöntemin karşılaştırılması 84
Şekil 5. 8. Deri için iki yöntemin karşılaştırılması 85
Şekil 5. 9. İki yöntemin numunelerdeki As içeriklerinin karşılaştırılması 86

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2. 1 Sucul ortamda ağır metallerin kabul edilebilir değerleri [12].....7
Tablo 2.2. Balık dokularında ağır metallerin kabul edilebilir değerleri.....8
Tablo 5. 1. *Liza ramada* (Kefal) için ağırlık ölçümleri.....73
Tablo 5. 2. Örneklerin çözünürleştirilmesinde kullanılan mikrodalga yakma programı 75
Tablo 5. 3. Yıkama metot parametreleri 75
Tablo 5. 4. GFAAS'de çalışma koşulları ve metot geliştirme.....75
Tablo 5. 5. As örnekleri analizde uygulanan sıcaklık programı 75
Tablo 5. 6. Külleme sıcaklığı optimizasyonu.....76
Tablo 5. 7. Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu.....77
Tablo 5. 8. GFAAS yöntemiyle balık örneklerindeki As içeriklerinin organlara göre dağılımı 78
Tablo 5. 9. HGAAS yöntemiyle balık örneklerindeki As içeriklerinin organlara göre dağılımı 80
Tablo 5. 10. Bağırsak için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g).....81
Tablo 5. 11. Solungaç için iki yöntemin bulunan As içerikleri.(µg/g) 82
Tablo 5. 12. Kas için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g).....83
Tablo 5. 13. Deri için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g).....84
Tablo5.14.Numunelerdeki As İçeriklerinin iki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması 85
Tablo 5. 15. Balıkların dokularında arsenik birikimi sıralaması.....86
Tablo 5. 16. GFAAS ve HGAAS ölçüm sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması 87

SİMGELER DİZİNİ

As: Arsenik

Ar: Argon

N: Azot

AAS: Atomik Absorpsiyon Spektrometri

EDL: Elektrotsuz boşalım lambası

FAAS: Flame Atomik Absorpsiyon Spektrometri

GFAAS: Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometri

HGAAS: Hydride Generation Atomik Absorpsiyon Spektrometri

ISO: International Organization for Standardization

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

LOD: Limit of Detection

LOQ: Limit of Quantitation

OKL: Oyuk Katot Lambası

RSD: Relative Standard Deviation

STPF: Stabilized Temperature Platform Furnace

THGA: Transversely Heated Graphite Atomizer

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Her canlı hem yaşadığı çevreden etkilenir, hem de yasam faaliyetiyle çevresini etkiler ve değişikliğe uğratır. Öte yandan, ekosistemlere sürekli olarak zehirli maddeler de katılır. Bunların bir kısmı doğadan, bir kısmı da insan aktivitelerinden kaynaklanır. Doğadan kaynaklananlara örnek olarak; bir volkanın faaliyeti sırasında çıkan kükürt gazları, denizlerde doğal olarak bulunan civa, orman içinden akan bir dereye dökülen yaprak vb. gibi organik maddeler verilebilir. Bununla birlikte kirlenme denilince insan müdahalesi sonunda oluşan çevre bozulması anlaşılır. Çünkü insan müdahalesi kısa bir zaman aralığında ve büyük bir yoğunlukta ortaya çıkar ve ekosistemde, yaşamı ciddi ölçüde etkileyen değişimler oluşturur.

İnsan da bulunduğu ekosistemin bir parçası olduğu için kendisinin neden olduğu değişiklikler başka canlıları etkilediği gibi, eninde sonunda kendini de etkiler. Bu değişiklikler bazen insanın o çevrede barınmasını imkansız kılacak boyutlara ulaşır [1].

Artan nüfusa daha iyi koşullarda yaşam ortamı sağlamak amacıyla, üretim arttırılmış, üretimin aşırı şekilde artması ile çevreye verilen kirleticiler de artarak, çevre kirlenmesi ciddi boyutlara ulaşmıştır [2].

Çevre kirliliği denildiğinde hava, su ve toprak kirlenmesi akla gelir. Toprakta ve havadaki kirleticiler de sonunda su ortamına ulaşır ve su kirliliğine neden olur. Çünkü toprağa ve havaya bırakılan kirleticiler bulundukları bölgede kalmaz. Yağmur, sel gibi yollarla yer üstü ve yer altı sularına karışarak kirlenmesine yol açar [2,3].

Su kirliliği, günümüz çevre sorunlarının en önemlilerinden birini oluşturur [4]. Sucul ortamda yaşayan canlı organizmalar, besin zinciri ile bünyelerinde biriken ağır metalleri, bir birlerine taşıyabildikleri gibi, ortamda yok olmayıp birtakım yollarla insanlara da ulaşabilmekte ve insan sağlığını tehdit ederek bazen tehlikeli boyutlara ulaşabilmektedir. Birçoğu canlı yaşamı için gerekli bu elementler, eksikliklerinde çeşitli Semptomatik bozukluklara yol açmaktadırlar. Fakat belirli sınırların üzerinde ise toksik etki yapıp organizmanın yaşamını tehlikeye sokarlar. Bu ağır metallerden, mineral olarak bilinen ve organizmada biyokimyasal reaksiyonlar için rol oynayan Ca, Mg, Na,

K, Mn, Cu, Zn, Fe, Mo, Co, ve Se ile endüstri atıkların sonucu ortama giren ve canlı organizmada kuvvetli toksik etkiye sahip Cd, Ni, Hg, ve Pb gibi ağır metaller, su ortamında belirli limitlerin dışına çıktığında toksik etki yapmakta ve organizmanın canlılığına son vermektedirler [5].

Ağır metaller, planktonlar ya da sudaki diğer tüketici organizmalar yolu ile balıklara geçer. Balıklar da insan beslenmesinde önemli bir protein kaynağıdırlar. Bu nedenle sucul ortamlarda artan ağır metal kirliliğinin balıklara ne derecede akümüle olduğunun araştırılması hem balık biyolojisi hem de insan sağlığı açısından önemli bir konudur [2,6,7].

Bu çalışmanın amacı, Gala Gölünde yakalanan ve daha önce çalışılmamış olan yörede Kefal Balığı olarak bilinen ***Liza ramada***(Risso, 1827)'nın, karaciğer, solungaç, kas, deri ve bağırsak dokularındaki arsenik birikimlerinin GFAAS ve HGAAS yöntemlerinin karşılaştırılması ile belirlenmesi ve saptanan değerlerin yönetmelik sınır değerleri ile karşılaştırılmasıdır.

BÖLÜM 2

AĞIR METALLER

Yoğunluğu 5 g/cm^3'den yüksek ve periyodik tablodaki atom numaraları 92 ile 222 arasında olan metaller, ağır metaller olarak adlandırılmaktadır. Bu gruba kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, civa ve çinko olmak üzere 60'dan fazla metal dahil olmaktadır [8].

Antik çağlarda metal cevherleri işlenmeye başlandığından beri metaller insan faaliyetleri ve jeokimyasal oluşumlar sonucu olarak doğal çevrimler dışında atmosfere, hidrosfere ve pedosfere yayılmaktadır. Yüzyıllar boyunca insanlar ağır metalleri, etkilerini bilmeden takı, silah, su borusu vb. çeşitli amaçlar için kullanarak güncel hayatımızda yer almasına neden olmuşlardır. Sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren kömürlerin yakılmaya başlanması ile endüstri bölgelerindeki ağır metal kirliliği aşırı boyutlara ulaşmış ve ağır metal kirliliğinden kaynaklanan ilk tanımlanan zehirlenmeler Japonya'da ortaya çıkmıştır [9].

Bu elementler doğaları gereği yer kürede genellikle karbonat, silikat, oksit ve sülfür halinde stabil bileşik olarak bulunurlar. Metallerin ekolojik sistemdeki etkileri yoğunluk değerine göre tanımlanmaya çalışılsa da aslında yoğunluk değerleri onların biyolojik etkilerini tanımlamaktan çok uzaktır.

Ağır metaller eser miktarlarda bile zararlı olabileceklerinden, canlı grupları içindeki birikim durumları sürekli izlenmeli ve bu konuda çeşitli araştırmalar yapılmalıdır. İz elementler veya eser elementler diye de adlandırılan bu metaller; Sb, Ag, As, Be, Cd, Cr, Pb, Mn, Hg, Ni, Se, Te, U, V, Zn, Al, Cu olarak belirlenmiştir. Metaller doğal sularda serbest iyonlar, inorganik ve organik bileşikler ve partiküler maddelere adsorbe edilmiş şekilde bulunurlar. Sedimentte çökmüş veya adsorbe edilmiş durumda olsalar bile, bazı fiziksel ve kimyasal olaylar ile tekrar iyonik forma dönüşüp toksik etki yapabilirler.[10]

Su kaynaklarına, endüstriyel atıklar, çeşitli şekilde çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmasıyla taşınan ağır metaller aşırı derecede seyrelirler ve kısmen karbonat, sülfat, sülfür olarak katı bileşik oluşturarak su tabanına çöker ve bu bölgede zenginleşirler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesinin sınırlı olması sebebiyle suların ağır metal konsantrasyonu sürekli olarak yükselir [9].

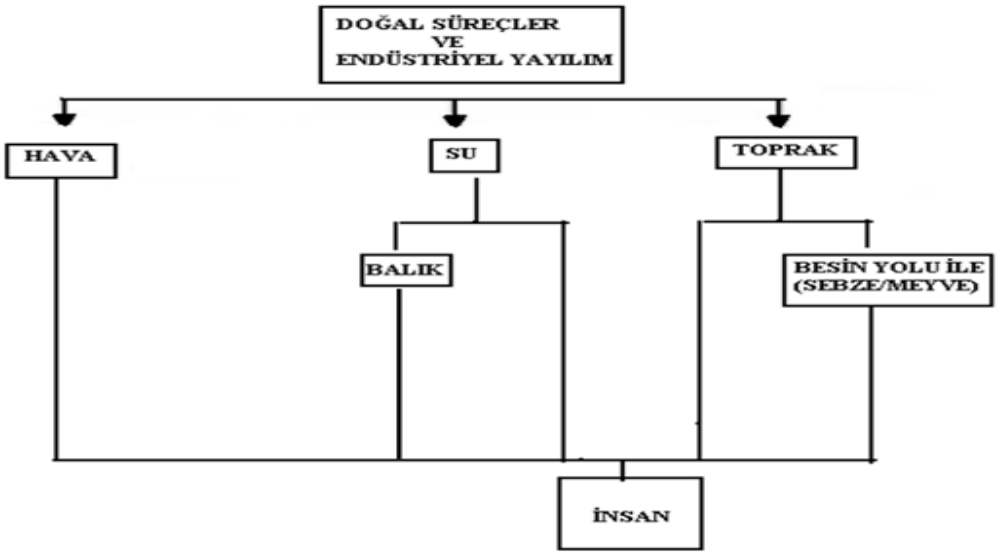
Metaller biyolojik anlamda üç gruba ayrılabilir:

Esansiyel elementler: Canlı için gerekli olan metallerdir. Sıvı ortamlarda haraketli katyonlar olarak taşınırlar.

Yan elementler: Düşük derişimlerde esansiyel olan fakat yüksek derişimlerde toksik etki yapan elementlerdir.

Eser elementler (Metaloitler): Genelde gerekli olmayan ve oldukça düşük konsantrasyonlarda hücrede toksik etki yapan elementlerdir.

Ağır metaller, besin zincirinin ilk halkasında yer alan ve direkt olarak besinlerini oluşturan fitoplanktonlar ya da sudaki diğer tüketici organizmalar yolu ile balıklara daha sonra da insanlara ulaşmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda besin zincirinde daha üst basamaklardaki et ile beslenen (karnivor) balıklardaki ağır metal konsantrasyonlarının otçul (herbivor) balıklardaki konsantrasyonlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca balıklardaki ağır metal birikimleri üzerinde beslenme zamanlarınında etkili olduğu buna bağlı olarak da ağır metal konsantrasyonlarında önemli değişmeler olduğu belirtilmektedir [2].



Şekil 2. 1Ağır Metallerin Doğal Döngüsü

2.1. Ağır Metaller İle İlgili Bazı Önemli Özellikler

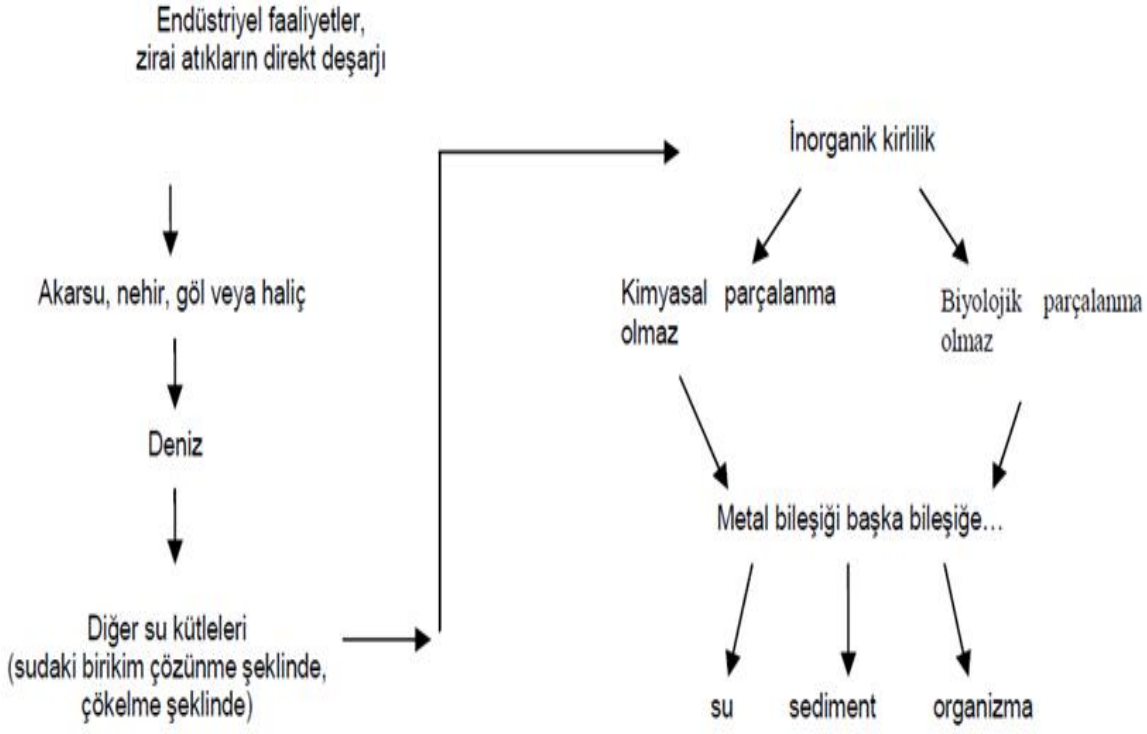
Metaller ve bileşikleri yerkabuğunda değişik konsantrasyonlarda bulunurlar. İz metaller çevre kirlenmesi bakımından yüksek konsantrasyonlu metallere oranla çok daha tehlikelidirler. Tabii minerallerdeki metaller normal olarak çözünmeyen bileşikler halinde olup canlı organizmalara zararsızdırlar. Buna karşılık bunların çözünen türevleri, genellikle organizmalar için toksiktirler. Ağır metaller çevrede özellikle biyosferde geniş bir yayılım gösterirler, bu sebeple zararlı formdaki konsantrasyonları önemli boyutlara ulaşır.

Kirleticiler, genelde iki ana kaynaktan sucul ortama ulaşırlar.

1) Noktasal deşarjlar; atık su deşarjları, endüstriyel kaynaklardan gelen atık sular;
2) Noktasal olmayan deşarjlar; tehlikeli atık bertaraf bölgeleri ve kaza sonucu sızmalardan salınan maddeler şeklinde olmaktadır.

Noktasal kaynakların tiplerini karakterize etmek genelde kolaydır.

Metal kirlenmesi, organik kirlenmeler gibi kimyasal ve biyolojik yollarla parçalanmazlar, bir metal bileşiği başka bir metal bileşiğine dönüşür. Dönüşme ne olursa olsun metal iyonu kaybolmaz.



Şekil 2. 2. Ağır metalin su ortamında izlediği yol

2.2. Ağır Metal Kirliliğine Yol Açan Kaynaklar

Ağır metal kirliliği kimyasal bir kirlilik olarak kabul edilir. Ağır metaller çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilmeleri, çevre koşullarına dayanıklı olmaları ve kolaylıkla besin zincirine girerek canlılarda artan yoğunluklarda birikebilmeleri nedeni ile diğer kimyasal kirleticiler arasında ilk sırada yer alır [11].

Çağımızda yasam standartlarının yükselmesine paralel olarak, ağır metallerin kullanım alanları da giderek artmaktadır [12].

Metaller erozyonla taşınan kaya parçalarıyla, rüzgarın taşıdığı tozla, volkanik aktivitelerle, ormanların yanmasıyla ve bitki örtüsüyle sulara taşınır. Denizdeki metaller, birçok nehrin bu denize katılımı sonucu birikir. Ayrıca bu nehirlerin endüstriyel ya da kentsel bölgelerden geçmesi sonucu insan atıkları nedeniyle birikim çok daha fazla olabilir. [13].

Ağır metallerin sucul ortamdaki en önemli etkisi asit yağmurları sonucu oluşur. Asit yağmurları, suların pH değerini düşürmekle birlikte, normal koşullar altında toprağa baglı olan alüminyum, kadmiyum ve civa gibi zehirli metallerin topraktan süzülerek sucul ortama girmesine neden olurlar. Yüksek konsantrasyonda asidik göllerde toplanan civa, kadmiyum gibi ağır metaller su canlılarının sayısı ve çeşitliliğinin azalmasına neden olurlar [14].

Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın su ürünleri yönetmeliğine göre sucul ortamdaki ve balık dokularındaki ağır metallerin kabul edilebilir değerleri aşağıdaki Çizelgelerde verilmiştir[13].

Tablo 2. 1 Sucul ortamda ağır metallerin kabul edilebilir değerleri[13].

Ağır metalin adı	Kabul edilebilir değer(mg/lt)
As	0,1
Cu	0,01
Hg	0,004
Zn	0,003
Fe	0,7
Ag	0,003
Cd	0,01
Co	1,0
Pb	0,1
Cr	0,1
Mn	1,0
Ni	0,3
Se	0,05

Tablo 2.2. Balık dokularında ağır metallerin kabul edilebilir değerleri

Ağır metalin adı	Kabul edilebilir değer(mg/kg)
Cd	0,1
Cu	20,0
Hg	0,5
Zn	50,0
As	1,0
Pb	1,0

2.3. Ağır Metallerin Zehirliliğini Etkileyen Etmenler

Ağır metal içeren çözeltilerin zehirliliğini etkileyen faktörler;

- Organizmanın türüne,
- Üreme zamanına,
- Su ortamının; ısı, ışık, tuzluluk gibi fiziksel değişkenlerine ve
- Metalin cinsine göre değişir[13].

Ancak genel olarak metallerin hepsi, birden fazla organ ve sistemi etkilemektedir. Böylece tek bir enzim sistemi veya tek bir biyokimyasal proses etkilenmemektedir. Örneğin civa ve arsenik, sülfidril grubu içeren birçok enzimi inhibe eder. Bu nedenle metal zehirlenmelerinde ‘‘hedef veya kritik organ’’, o metale en duyarlı olan etki yeri için kullanılmaktadır. Örneğin kadmiyuma en duyarlı organ böbrekler olmakla beraber karaciğer ve akciğerlerde de etki görülür[13].

2.4. Ağır Metallerin Balık Tarafından Alınması

Ağır metallerin balık tarafından alınması, suyun ve sedimentin kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlıdır. Örneğin, suda artan kalsiyum konsantrasyonu; bakır, kadmiyum ve çinkonun alınmasını azaltır.

Balıklar ağır metalleri;

1) Vücut yüzeylerinden,
2) Solungaçlardan ve
3) Sindirim sisteminden olmak üzere üç yoldan vücutlarına alırlar.

En fazla ağır metal absorpsiyonu solungaçlarla gerçekleşirken vücut yüzeyinden absorpsiyon oldukça azdır.

- Solungaçlardan absorpsiyon: Balıklar, ağız yoluyla alınan sudaki oksijenin solungaçlardaki kılcal damarlardan geçmesi sırasında, suda çözünmüş veya askıda bulunan maddeleri de alırlar. Bu sırada suda bulunan ağır metaller de solungaçlardaki lameller tarafından vücut içerisine alınır [15].

- Sindirim sisteminden absorpsiyon: Balıklarda en çok zehirlenmeler ağız yoluyla alınan toksik maddelerle olmaktadır. Bu nedenle gastrointestinal absorbsiyon oldukça önemlidir. Sindirim kanalından absorbe olan toksik madde, kan dolaşımı ile tüm vücuda dağılarak zehirlenmeye yol açabilir.

Ağız yoluyla vücuda giren toksik maddelerin absorpsiyonlarının en fazla olduğu yer ince bağırsaklardır [16].

- Deriden absorbsiyon: Deri genellikle toksik maddelerle temas halindedir. Ancak derinin ağır metallere karşı fazla geçirgen olmayışı nedeniyle canlıların bu yolla zehirlenmeleri daha az görülür [2].

  Deride epidermis bölgesinde bulunan stratum corneum tabakası epidermik bir bariyel olarak birçok kimyasal maddenin geçişini önlemektedir.
  Balık vücudundaki, ağır metaller deri, solungaçlar ve boşaltım yoluyla atılabileceği gibi, belirli bir dokuda da depolanabilirler [17].

Vücuda alınan metaller taşıyıcı proteinlere bağlı bir şekilde kan yolu ile doku ve organlara taşınmakta ve dokulardaki metal bağlayıcı proteinlere bağlanarak da yüksek derişimler ulaşmaktadır [18].

Sucul canlıların besin yolu ile aldığı metaller türlere göre farklılık gösterir. Örneğin; pelajik canlılarla bentik canlıların beslenmeleri farklı olduğundan ağır metal düzeyleri de farklı olacaktır. Ağır metaller deniz, göl ve nehirlerde sedimentte birikirler. Böylece bentik canlılar gerek kirlenmiş sedimentle temas ve gerekse sedimentteki organik maddelere bağlı olan ağır metalleri de alarak direkt olarak etkilenirler [19].

2.5. Ağır Metallerin Balıkta Birikimi

Ağır metaller sularda ayrışamadıklarından veya zor ayrıştıklarından organizmaların dokularında büyük konsantrasyonlarda birikir. Emilmeyen ağır metaller ise boşalım sırasında vücuttan atılır. Eğer boşaltım işlemi bunun için yeterli değilse toksik ağır metaller toksik olmayan bileşikler içinde, biçim değiştirerek karaciğer ve böbrekte depolanır.

2.6. Tez Çalışmasında İncelenen Eser Element

2.6.1 Arseniğin özellikleri

- Atom numarası: 33
- Simge: As
- Element Serisi: Metaloidler
- Kütle numarası: 74.992
- Kaynama Noktası (°C): 613
- Erime Noktası (°C): 817
- Yoğunluk: 5.72
- Buharlaşma Isısı: 7.75
- Kaynaşma (Füzyon) Isısı: 6.62
- Elektriksel iletkenlik: 0.029
- Özgül Isı Kapasitesi: 0.082
- Fiziksel hali: Katı
- Renk: Gri
- Koku: Kokusuz

- Yoğunluk: (25C) 5.73 g/cm3
- Erime noktası: 817°C
- Süblimleşme noktası: 613°C
- Yer kabuğunun yaklaşık % 0,0005'ini oluşturur.

Arseniğin temel element olup olmadığı hakkında farklı görüşler vardır. Önceleri temel olmayan toksik bir element olarak kabul edilse de günümüzde yaşayan organizmalarda var olması nedeniyle fonksiyonu bilinmeyen bir element olarak düşünülmektedir.[20]

Doğada en çok bulunan formu inorganik arseniklerden arsenik trioksittir (As_2O_3). İnsanlar günlük 300 µg alabilirler.

Arsenik azot ailesinden metalloid özellik gösteren bir elementtir. Gri ve sarı kristaller halinde iki ayrı biçimde bulunur. Arseniğin bazı biçimleri metale benzemekle birlikte element olarak genellikle ametaller arasında sınıflandırılır.

Arseniğin toksisitesi kimyasal yapısına bağlıdır ve genellikle çözünebilir inorganik arsenik türleri, organik arsenik türlerine göre daha toksiktir. Çünkü organik arsenik normal şartlarda vücuttan kolayca atılır. Ayrıca As(III) de As(V)'e göre daha toksiktir.[21]

Arsenik çevrede yaygın olarak bulunmaktadır. Özellikle +5 değerlikli bileşikleri toprakta diğer arsenik türlerine oranla daha fazla bulunmaktadır ve toprakta 0,1-40 ppm aralığında rastlamak mümkündür. Topraktaki organik maddelere bağlı olarak da bulunan arsenik, organik maddelerin okside olmasıyla suya ve oradan bitkilere geçer. Denizlerde ve doğal su kaynaklarında değişen oranlarda arsenik bulunmaktadır.
Suyun ısısının arttığı yerlerde arsenik oranının da arttığı bilinmektedir.

Arsenik temel olarak;

- Pestisit (haşere öldüren kimyasal maddeler) üretiminde,
- Herbisit (zararlı otları öldüren tarımda kullanılan kimyasallar) üretiminde ,
- Gıda katkı maddelerinde,
- Cam, fişek ve bazı lazer ekipmanlarının üretiminde,

- İlaç üretiminde (lösemi tedavisinde kullanılan arsenik trioksit yapımında) kullanılır [22].

Deniz ürünlerinde arsenik miktarı tolerans sınırı olan 2,6 ppm üstünde olabilir. Arsenik tarih boyunca hep zehir olarak kullanılmış olup, hemen hemen tüm bileşikleri zehirlidir. Ayrıca havadan alınan arseniğin kanserojen olduğu da kesin ispatlanmıştır. Arsenik, organizmada karaciğer, böbrekler, deri, tırnak ve saçta birikir, idrarla atılır.

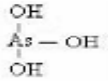
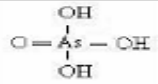
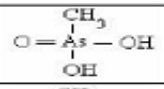
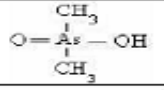
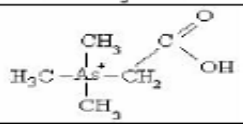
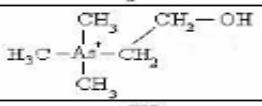
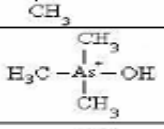
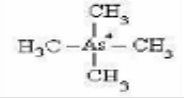
2.6.2 Arsenik kaynakları

Volkanik aktivitesi olan ve jeotermal bölgelerde bulunur.

Arsenik;

- Elemental,
- Gaz (arsin),
- Organik ve
- İnorganik formlarda bulunur.

Gaz formu en toksik formudur. Doğada en çok bulunan formu inorganik arseniklerden arsenik trioksittir. İnsanlar günlük 300 µg alabilirler [23]. Arseniğin organik ve anorganik formları aşağıdaki şekilde verilmiştir.

Analit	Kısaltma	Molekül Yapısı	pKa
Arsenit	As (III)		9.23
Arsenat	As(V)		2.25 6.77 11.60
Monometil Arsonik Asit	MMA		3.6 8.2
Dimetil Arsinik Asit	DMA		1.3 6.2
Arseno Betain	AsB		2.18
Arsenocholine	AsC		-
Trimetil Arsin Oksit	TMAO		3.6
Tetrametil Arsonyum İyonu	$TMAs^+$		-

Şekil 2. 3. Bazı önemli arsenik bileşikleri ve pKa değerleri

2.6.3 Arseniğin Eldesi

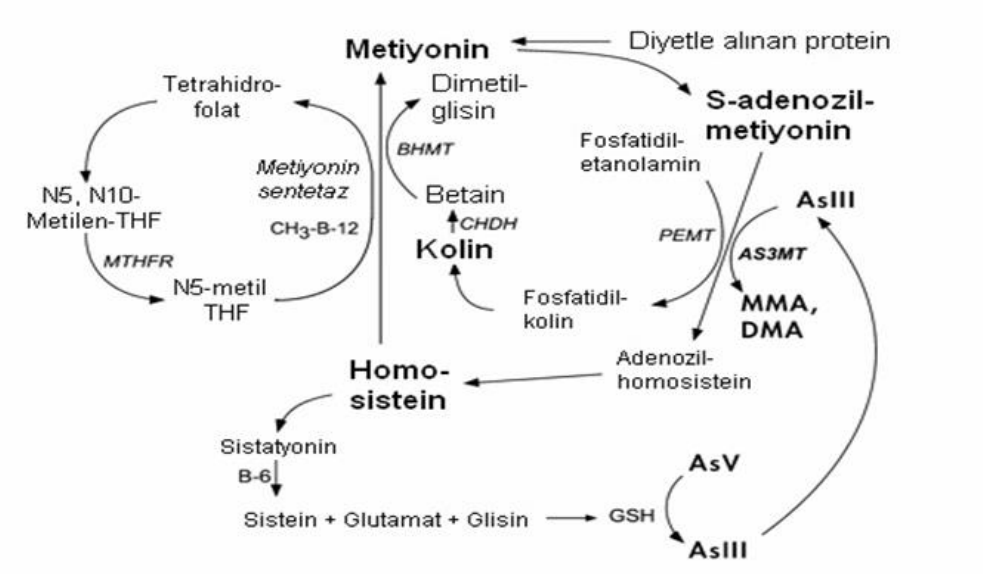
Arsenik ve arsenik içeren mineraller ısıtıldıkları zaman süblimleşirler (katı halden sıvı hale geçmeksizin gaz hale geçmek) .

- Realgar (As_4S_4),
- Orpigment (As_2S_3)
- Arsenolit (As_2O_3)
- Arsenopyrite (FeAsS) ve
- Demirli Arsenik($FeAs_2$) gibi minerallerinin oksijensiz ortamda ısıtılması ile saf arsenik süblimleşerek elde edilir.
- Sülfür bileşiklerinin ve oksitlerinin indirgenmesi ile elde edilir. Bu reaksiyon sıcakta yapıldığında arsenik süblimleşerek ayrılır.

  $2As_2S_3 + 6Fe \rightarrow 6FeS + As_4$

  $2As_2O_3 + 3C \rightarrow 3CO_2 + As_4$

2.6.4 Arseniğin toksik etki mekanizması



Şekil 2. 4. Arseniğin toksik etki mekanizması

Toksik Etki Mekanizması

Arsenik, S-adenozilmetiyoninden metil gruplarının transfer edildiği indirgenme ve metilasyon reaksiyonlarının yer aldığı tek karbon metabolik yolla metabolize edilir.

Bu reaksiyonların devamlılığı için diyetle S-adenozilmetiyonin'e (SAM) metil grubu sağlanması ve pentavalan arseniğin indirgenmesi için ortamda glutatyon bulunmasına gereksinim vardır. İnorganik arsenik temel metabolitleri olan metilarsonik asit (MMA) ve dimetil arsinik asit (DMA) idrarla atılmaya başlar.

2.6.5 Arsenik düzeyi ölçüm yöntemleri

- Hidrür Oluşturmalı AAS
- Grafit Fırın AAS
- İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) Teknikleri
- Nötron Aktivasyon Analizi
- X- Ray Flouresans Spektrometri

- **Hidrür oluşturmalı AAS**

İnorganik arsenik tayini için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. IVA ve VA grubu elementleri hidrür denilen kovalent hidrojen bileşikleri verirler. Arsin üretimi için sodyum veya potasyum tetra hidroborat kullanılır.

Arsenik bileşiklerinden arsin (AsH_3) ,oluşturmak için Zn ile indirgeme yöntemi kullanılır. Bu tür hidrürleri oluşturarak maddeleri gaz halinde atomlaştırıcıya göndermekle AAS yönteminin duyarlılığı 10-100 kat arttırılmış olur.

As(III)' ün tetra hidroborat ile As(V) den daha yüksek pH da reaksiyona girmesine bağlı olarak hidrür oluşturma yöntemi As(III) ve As(V)' in seçimli tayininde kullanılabilir. Hidrür oluşturma yöntemi genellikle tayinin duyarlılığını arttırır örnek matrisindeki olası interferensleri azaltır.

Bu teknikte işlem:

1) **Uçucu hidrürün oluşturulması;**

Kuvvetli indirgene gereksinim vardır. Bu amaçla Zn ve HCl karışımı kullanılabilir. Arsenikte Zn ile hidrür oluşturmadan önce As(V) 'in As(III) 'e indirgenmesi gerekir.$NaBH_4$ ile hızlı hidrür oluşumu çok yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

$$As(OH)_3 + 3BH_4^- + 3H^+ \longrightarrow AsH_3 + 3BH_3 + 3H_2O$$
$$3BH_3 + 3H_2O \longrightarrow H_3BO_3 + 3H_2$$

2) **Hidrürün ışın yoluna gönderilmesi;**

Oluşan hidrürün soğurma sistemine gönderilmesi ya bir pompayla sürekli ya da bir toplama kabına toplandıktan sonra bir seferde olur (Kesikli).

3) **Hidrürün atomlaştırılması;**

Işın yolundaki hidrürler atomlaştırılır ve gaz halindeki bu atomların rezonans ışınları soğurması gerçekleşir. Soğurum işlemi Lambert-Beer yasasına göre gerçekleşir. Zamana karşı okunan sinyaller grafiğe geçirilir.

- **Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektoskopisi**

Teknik, yüksek sıcaklıklara ısıtılabilen, küçük grafit tüp içerisinde tutulan örneklerden oluşan serbest atomların absorbsiyonuna dayanır. As tayini için belirtilen metotların çoğu duyarlılığı arttırmak için ön deriştirme işlemi gerektirir. Elektrikle ısıtılan fırın sistemi ışın yoluna yerleştirilir 2-200 µL. Örnek çözeltisi tüpe enjekte edilir ve fırının sıcaklığı kademeli olarak arttırılarak önce kurutulur, yakılır son olarak sıcaklık birden arttırılarak atomlaştırma gerçekleştirilir, gaz halindeki atomların rezonans ışınları soğurması belirlenir.

- **İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) Teknikleri**

ICP-MS (Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometer) katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, ucuz, hassas ve doğru biçimde, nitel, nicel ya da yarı-nicel olarak ölçülmesine olanak sağlayan ileri teknoloji ürünü bir analiz tekniğidir.

Örnekteki tüm elementlerin derişimleri 1 ile 2 dakika arasında değişen oldukça kısa bir sürede ölçülür. ICP-MS ölçüm tekniğinde sıvı örnekler Çözelti ICP-MS, katı örnekler ise çözeltiye alınarak Çözelti ICP-MS ya da doğrudan Lazer Aşındırma ICP-MS teknikleri ile ölçülebilirler.

- **Nötron Aktivasyon Analizi**

Bu yöntemde saç örneklerinin incelenmesi sonucunda saçta bulunan elementlere göre zehirlenmeler tespit edilir. Temel prensibi, kararlı bir izotopun nötronlar veya yüklü parçacıklarla bombardıman edilerek uyarılması sonucu yayınlanan ışınların dedeksiyonu ve bombardıman sonucu oluşan radyoaktif çekirdeğin parçalanması yarı ömrünün tayinine dayanır. Aktivasyon analizi, elementlerin nitel ve nicel analizinde kullanılan doğru ve incelikli sonuçlar veren ekonomik, süratli bir analiz metodudur.

- **X-Ray Flouresans Spektrometri**

Bu yöntemle özelikle bazı elementlerin duyarlılık sınır oldukça büyüktür arsenik duyarlılık sınırı 100 ppm'dir.

X-ışınları fluoresans spektrokopisinde genellikle katı numunelerle çalışılır. Ancak çözeltilerin analizi de uygun düzenekler kullanılarak yapılabilir. Katı numuneler ya çelik analizinde olduğu gibi bir yüzeyi düzeltilerek numune doğrudan ışınlanır veya önce toz edilen baskı ile tablet yapılıp ışınlanır.

Yöntemin duyarlılığı oldukça yüksektir. Genellikle ppm derecesinde olan duyarlılık, küçük atom numaralı elementlerde biraz daha düşüktür. X-ışınları fluoresans analizinden alınan sonuçların yinelenebilirlikleri çok iyidir. Kullanılan işlemler oldukça yakındır ve sonuca çabuk ulaşılır.

Elde edilen sonuçlardaki yanılgılar elemente, numunenin yapısına ve numune hazırlama yöntemine göre değişir. İyi çalışıldığında %1 kadar bağıl hata elverişsiz koşullarda %3–4 değerine ulaşır.

BÖLÜM 3

ESER ELEMENTLER

İnorganik ve organik numunelerde konsantrasyonu 100 μg/g altında olan elementlerin analizi olarak tanımlanabilen eser element analizi, uygun analitiksel teknikler kullanılarak ng/g ve pg/g seviyelerinde bile doğru ve kesin olarak tayin edilebilir, ancak eser elementlerin çok düşük konsantrasyonlarında çeşitli matrikslerden dolayı zorluklar çıkarabilir [24].

Eser element analizlerinin ilk örneği Gutzeit Metodu, kalitatif Marsh testi [25] esas alınarak yapılan arsenik tayinidir [25].

3.1. Eser Elementler Ve Önemi

Normal insan vücudunda 40'tan fazla element bulunur. Bunların 30 kadarının biyolojik fonksiyonları bilinmekte ve insan vücudu için esansiyel oldukları kabul edilmektedir. Bu elementlerin sınıflandırılması fonksiyonlarına ve analiz yöntemlerine göre yapılmıştır. Nispeten yüksek konsantrasyonda (>100 mg/L) olan ve FAAS ve FAES gibi yöntemlerle kolaylıkla tayin edilebilen elementler majör olarak tanımlanmıştır. Oysa insan vücudunda bulunan elementlerin çoğu eser miktarlardadır ve tayin edilebilmeleri için ETAAS ve HGAAS gibi daha duyarlı yöntemlere ihtiyaç vardır.[26]

Major esansiyel elementler, sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum ile sınırlanabilir.

Eser elementlerin ise sınıflandırılması üç genel başlık altında yapılabilir:

- Esansiyel elementler: Demir, bakır, çinko, mangan, selenyum, molibden, kobalt ve vanadyum,
- Esansiyel olmayan ve tedavi amaçlı kullanılan elementler: Alüminyum, altın, bizmut, galyum, lityum ve platin,

- Toksik elementler: Kurşun, kadmiyum, gümüş, berilyum, nikel, arsenik, civa, antimon, tellür, seryum ve talyumdur [27].

1930'lardan önce canlı vücudunda sodyum, potasyum ve kalsiyum dışında anorganik element olduğu bilinmiyordu. Bakır, çinko, selenyum gibi elementlerin varlığı tespit edilememişti. Çünkü o yıllarda analitik kimyada klasik analiz yöntemlerinden aletli analiz yöntemlerine henüz geçilmediğinden tayin sınırları oldukça yüksekti. Örneğin insan vücudunda çinkonun varlığı ilk olarak 1939 yılında anlaşılmıştır [27].

1947-1956 yılları arasında analitik kimyada önemli atılımlar olmuş ve klasik yöntemlerden aletli analiz yöntemlerine geçilmiştir.

Eser elementlerin canlılardaki denge konsantrasyonları analitik yöntemlerin gelişmesi ile saptanabilmiştir. Günümüzde gerek analitik kimya, gerek tıp, çevre ve gıda alanındaki bilim adamları eser elementlerin canlı organizması üzerindeki olumlu ve olumsuz etkilerini bilmektedir. Bu da son 30 yılda eser elementlerle ilgili birçok süreli yayınlar ortaya çıkmasını ve ' Biyoinorganik Kimya' adı verilen yeni bir bilim dalının doğmasını sağlamıştır.

Eser elementlerin enzim sistemleriyle yakın ilişkileri asıl biyolojik fonksiyonları olarak düşünülmektedir. Çoğu metalo-enzimler, enzim molekülünün metal ile bir arayagelmesi sonucu oluşur ve molekülün kararlılık ve/veya aktivitesine katkıda bulunur.Eser elementler, protein ve nükleik asitlerin kararlılık ve sentezinde indirgenme / yükseltgenme süreçlerinde de rol oynarlar.

Temel ve temel olmayan eser elementlerin biyolojik örneklerde tayininin, fizyolojimizin açıklanması, hastalığın teşhisi ve tedavi için uygun yöntemin seçimi açısından önemli olduğu açıktır. Doğal olarak, elementlerin tayini için, çalışılan örnekteki konsantrasyon, konsantrasyonun değişkenliği, sonuçların kullanılabilirliği ve analiz örneklerinin sayısı açısından doğrulama karakteristikleri (tayin limiti, doğruluk, kesinlik, vs.) verilen bir analitik metot gereklidir [28].

Verilen örneklerde eser elementlerin önemi açıkça anlaşılmaktadır. İnsan organizması ve çevre sağlığı açısından eser element analizlerinin son derece sürpriz sonuçlar ortaya çıkaran ve kısa vadede yararlı sonuçlara dönüştürülebilen analizler olduğuna da dikkat çekmek gerekir. Organizmada bulunan eser elementlerin bir kısmının konsantrasyonları, fonksiyonları ve analiz yöntemlerinin geliştirilmesi hala araştırmaya açık ve analitik kimyacıların ilgi göstermesi gereken konulardan biridir [27].

3.2. Biyolojik Örneklerde Eser Elementler

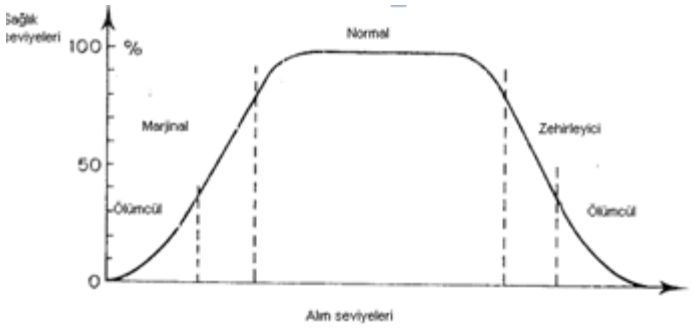
Eser elementler atmosferik ve endüstriyel kirlilik nedeniyle toprakta birikerek ekosistemi etkiyebilir. Bu yüzden toprakta ve bitki numunelerinde eser elementlerin araştırılması çevre kirliliğinde özellikle de besin gereksinimleri konusunda önemli bir noktadır.

Eser elementlerin biyolojik maddelerdeki analizleri, üzerinde önemle durulması gereken bir konudur.

Biyolojik maddeler,

1) Bitki ve hayvan dokularını,

2) En yaygın türdeki bitki ve hayvan ürünlerini içermektedir.



Şekil 3. 1. Bir temel element için doz-tepki eğrisi

Hayvan ve bitki organizmalarındaki element konsantrasyonları çevre ve bulundukları doğal ortam başta olmak üzere pek çok faktörden etkilenmektedir.

Bu faktörler bitkiler için,

1) Toprağın yapısı,
2) Gübreler,
3) Ürün koruyucular,
4) Herbisit ve pestisitler,
5) Karayolu veya endüstriyel tesislere olan yakınlık şeklinde sıralanırken,

Hayvanlar ve hayvansal ürünler için,

1) Beslenme,
2) Hayvansal yemler ve
3) Çevre'dir.

Bir çevresel analiz süresince incelenen biyolojik maddelerden, özellikle bitki ve hayvanlardan, trafik arterleri, endüstriyel bölgeler, nehirler gibi bazı bölgelerin incelenmesinde biyoindikatör gibi faydalanılabilir.

Vücut sıvılarında ve dokularında olduğu gibi hayvansal ve bitkisel örneklerde, yiyeceklerde ve hayvansal besinlerde de genellikle aynı elementler tayin edilmektedir.

Canlı organizmalarda önemli olan, sağlıklı beslenmenin yanında mineral ve eser elementlerin uygun miktarda alınmasıdır. Bu alana ait temel elementler: Na, K, Ca, Mg ve P ayrıca daha düşük konsantrasyonlarda bulunan eser elementler: B, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Si, Sn, V ve Zn 'dir.

Biyolojik maddelerin analizinde en önemli konu, beslenme, hayvansal yemler veya topraktan, sağlığa zararlı ağır metal konsantrasyonlarının alımıdır. Bu aşamada zararlı konsantrasyonların kaynağını bulmak gerekmektedir.

Örneğin; kurşun kirliliğinin en önemli kaynağı ana yolların civarındaki otlar, çayırlar gibi alanlar, Cd, Hg ve diğer pek çok ağır metalin bulunduğu kirli topraklar, gübreler ve herbisitlerdir. Cd, Pb, Hg gibi elementlerin mantar, midye, balık gibi bazı türlerde birikimi özellikle besin zincirinde en çok bilinen örneklerdir.

Gıda maddeleri de üretim işlemleri sırasında, örneğin çelik tanklardan Cr ve Ni gibi bazı kontaminasyonlara ya da saklama, depolama sırasında teneke kutu veya konserve kaplarından Al veya Sn kontaminasyonlarına maruz kalabilir.

Toksisite yanında bu tip kirlilikler tat ve renk için de önemlidir. Örneğin; sütün içinde 0,1mg/L gibi bir Cu konsantrasyonu sütün tadını değiştirir ve ayrıca üretilen yağın tadında da ekşimsi bir lezzete neden olur. Çoğu eser element alkollü içeceklerde renk değişimine neden olur.[29]

Yiyecekler ve hayvan yemleri için kalite kontrolü de önemlidir, özellikle bu ürünler Fe, Se gibi katkı maddeleri içeriyorsa yada bazı maddeler için "düşük Fe", "azaltılmış Na" gibi açıklamalar kullanılıyorsa daha da önem kazanmaktadır.

Toprağın özellikleri, hayvansal yemler, çevre veya hazırlanma şekilleri ürünü tanımaya yardımcı olduğu için, eser elementlerin analizi belli başlı bazı yiyeceklerin kaynağını ve güvenirliğini kanıtlamak açısından önemlidir[28].

3.3. Eser Element Tayinlerinde Önem Taşıyan Bazı Genel Kavramlar

Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) ve Uluslararası Standartlar Teşkilatı (ISO)'nun önerilerine göre bütün analitik spektroskopik metotlarda (alev emisyon, atomik absorpsiyon ve atomik floresans) kullanılan, analitin performansı ile ilgili terimler maddeler halinde kısaca açıklanmıştır.[30]

Tekrarlanabilirlik; Aynı numune için paralel sonuçların birbirine yakın olma özelliğidir. Ortalama değerden sapma şeklinde tanımlanır. Standart sapma, bağıl standart sapma ve yüzde bağıl standart sapma olarak verilir. Yüzde bağıl standart sapma, farklı ortalama değerleri olan verilerin karşılaştırılmasında oldukça yararlıdır. Analitik işlemlerin farklı aşamaları için tekrarlanabilirlik verilebilir.

Gözlenebilme Sınırı:Genel olarak gözlenebilme sınırı %95 ihtimalle belirlenebilen element derişimi veya miktarıdır. Tanık veya buna yakın bir derişimdeki bir çözelti için bulunan değerlerin standard sapmasının iki veya üç katıdır.

Genel olarak gözlenebilme sınırı yakınında tayin yapılmaz. Tayinin yapılabileceği gözlenebilme sınırının 5-10 katı olarak alınır. Bu değere de tayin sınırı denir.

Derişim elde edilen sinyal büyüklüğünün bir ölçüsü olduğundan gözlenebilme sınırı doğal olarak duyarlığa bağlıdır. Ayrıca, gürültü olarak tanımlanan zemindeki değişmelere de bağlıdır.

Doğruluk; Ölçümlerin gerçek veya kabul edilen değere yakınlığını belirtir. Diğer taraftan, bir büyüklüğün gerçek değeri hiçbir zaman tam olarak bilinmediğinden, doğruluk tam olarak tayin edilemez. Doğru değer yerine doğru kabul edilen değer kullanılmalıdır.
Doğruluk, mutlak ya da bağıl hata terimleriyle ifade edilir.

Mutlak hata: Bir X_i büyüklüğünün ölçümündeki mutlak hata $E=X_i - X_t$ eşitliği (3.1) ile verilir.
Buradaki Xt, söz konusu büyüklüğün gerçek değer kabul edilen değeridir.

Bağıl hata: Genellikle mutlak hatadan daha faydalı bir büyüklüktür.

Yüzde (%) bağıl hata bu eşitlikle ifade edilir;

$$E = \frac{(Xi - Xt)}{Xi} . 100 \quad (3.2)$$

Ölçümün doğruluğu, analiz elementinin referans maddeleri kullanılarak veya bağımsız ve farklı analitik metotların uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak belirlenir.

Doğruluk ve kesinlik arasında farklılıklar vardır. Doğruluk, bir sonuç ile gerçek değer arasındaki yakınlığı ölçer.

Kesinlik; Ölçümlerin tekrarlanabilirliğini, yani tamamen aynı yolla elde edilen sonuçların yakınlığını gösterir. Genellikle standart sapma ile verilir.

Doğruluk ve kesinlik arasında farklılıklar vardır. Kesinlik aynı yolla ölçülen birçok sonuç arasındaki yakınlığı açıklar.Kesinlik aynı zamanda rastgele ya da belirsiz

hataların bir ölçüsüdür. Kesinlik için sayısal ölçütler, mutlak standard sapma, bağıl standard sapma, varyasyon katsayısı ve varyans olarak sayılabilir.

Duyarlılık; Duyarlılık en düşük analit derişimini algılayabilme kabiliyetidir. Okunan absorbans değerlerinin standard çözeltilerin derişimlerine karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilen kalibrasyon doğrusunun eğimi duyarlılık olarak tanımlanır. Analitik duyarlılık, tayin edilen elementin cinsine, cihaza ve tayindeki bazı fiziksel ve kimyasal etkenlere bağlıdır. Atomik absorpsiyonda duyarlılık özel olarak analiz elementinin net % 1' lik absorpsiyonuna veya 0,0044' lük absorbans değerine karşılık gelen derişim olarak tanımlanmıştır. Bu büyüklük karakteristik derişim olarakta tanımlanır.

Geri Kazanım; Bileşimi bilinen bir maddenin analizi sonucunda elde edilen değerin başlangıç değerine oranı olarak tanımlanır. Geri kazanma verimi, yöntemin optimizasyonu için incelenen faktörlerin değerlendirilmesinde ölçüt olarak kullanılır.

Sinyal/Gürültü Oranı;Yapılan ölçümlerin tekrarlanabilirliği sinyal/gürültü (S/N) oranının yüksek olmasına bağlıdır. S/N oranı azalırsa % bağıl standart sapma artar ve tekrarlanabilirlik azalır.S/N oranı cihazın özelliklerine, kullanım ömrüne ve örneklemedeki başarıya bağlıdır.[31]

Tayin Sınırı (LOD); Normal olarak gözlenebilme sınırı yakınlarında tayin yapılamaz. Tayinin yapıldığı derişim LOD değerinin 3-5 katıdır. Bu değere tayin sınırı denir. Tayin sınırı, tanık çözelti için ölçülen absorbans değerinin standart sapmasının yaklaşık 10 katına karşılık gelen derişim veya kütlesine karşılık gelir.

3.4. Eser Elementlerin Zenginleştirme Yöntemleri

Zenginleştirme yöntemleri ile eser elementler bozucu ortam bileşenlerinden ayrılarak daha küçük hacim içerisine alınır ve dolayısıyla deriştirilir. Eser analizlerde kullanılan zenginleştirme yöntemleri ile tayin yönteminde aşağıdaki gelişmeler sağlanır.

- Eser element derişimi artırılarak yöntemin tayin kapasitesi artırılır.

- Eser elementler uygun ortama alındığından, ortamdan gelebilecek girişimler giderilir.
- Büyük örnek miktarları ile çalışılabildiği için örneğin homojen olmayışından gelebilecek hatalar önlenir.
- Ayırma işlemi ile elementler bilinen bir ortama alındığı için, standartlarla örnek ortamını benzetmek kolaylaşır.
- Bozucu etki gösteren ortam, uygun ortam ile yer değiştiği için zemin girişimi azalır [32].

Eser element analizinde kullanılan zenginleştirme yöntemlerinin değerlendirilmesinde Geri kazanma verimi (R) kriter olarak kullanılır.

$$\% R = \frac{Q}{Q_0} 100 \qquad (3.3)$$

Burada;

Q_0: Örnekte bulunan analiz elementinin miktarı

Q: Zenginleştirme sonrası ikinci ortamdaki analiz elementinin miktarıdır.

İdeal bir ayırma için R, % 100 olmalıdır. Pratikte % 99'dan büyük bir geri kazanma değerine ulaşmak mümkün değildir. %95'lik geri kazanma verimleri yeterlidir [33].

Eser elementlerin zenginleştirme yöntemlerini şu şekilde sıralayabiliriz;

- Ekstraksiyon,
- Uçurma,
- Elektrolitik biriktirme,
- İyon değiştirme,
- Katı faz ekstraksiyonu [34].

3.5. Numune Parçalama Yöntemleri

3.5.1 İnorganik asitlerle parçalama

Bu yöntem aynı zamanda yaş kül etme yöntemi olarak da adlandırılabilir. Bunun nedeni sıvı reaktiflerin kullanılıyor olmasıdır. Yaş kül etme yönteminde organik numuneler HNO_3, H_2SO_4, $HClO_4$ gibi asitlerle ayrı olarak parçalanacağı gibi bu asitlerin karışımı yükseltgen reaktiflerle parçalanması da söz konusudur. Bir ısıtıcı yardımıyla numunenin asitteki süspansiyonu katı faz kayboluncaya kadar ısıtılır. Parçalanma sıcaklığı asidin kaynama noktasıdır.

Nitrik Asit: Nitrik asit birçok metali yükseltgeyebilen bir asittir. 2M derişimin altında yükseltgeme gücü zayıftır.

Ancak yükseltgeme gücü;

- Klorat,
- Permanganat,
- Hidrojen peroksit ve brom katılmasıyla veya
- Basınç ve sıcaklık yükseltilerek arttırılabilir.

Nitrik asit altın ve platini yükseltgeyemezken, bazı metallerde de pasifleşirler. Bu metaller asit karışımları ile yükseltgenebilir.

Hidroklorik Asit: Yükseltgeyici değildir.

- Metal karbonatlar,
- Peroksitler ve
- Alkali hidroksitler hidroklorik asitle çözülebilir.

Altın, kadmiyum, demir ve kalay gibi bazı metaller hidroklorik asitle çözülebilir ancak başka asitlerle çözünürlükleri arttırılabilir. Genellikle nitrik asit kullanılır.

Hidroflorik Asit: HF silikatları çözebilen birkaç asitten biri olduğu için daha çok inorganik örnekleri çözmede kullanılır. Çözücü gücünü arttırmak için nitrik asit gibi başka asitlerle karıştırılır.

Sülfürik Asit: Seyreltik sülfürik asidin yükseltgeme gücü olmasa da derişik halde bazı bileşikleri çözebilmektedir. Kaynama noktası 339°C olan % 98,7'lik sülfürik asit teflon kapların yüzeyinde korozyona neden olduğu için daha çok kuartz kaplarla

çalışma tercih edilir. Sülfürik asit de diğer asitlerle beraber kullanılır. Daha çok perklorik asit ve hidrojen peroksit tercih edilir.

Perklorik Asit: Seyreltik perklorik asidin sıcak veya soğukta yükseltgeme gücü yoktur. % 60-72' lik perklorik asit ise sadece sıcakta yükseltgeyicidir. Organik maddeleri ve bazı alaşımları çözebilir. Bazı organik matrikslerle hızlı tepkime verir, hatta patlayıcı olabilir. Bu nedenle genelde nitrik asitle karıştırılarak kullanılır ve organik maddelerin kontrollü çözünürleştirilmeleri sağlanır.

Karışımdaki nitrik asit düşük sıcaklıkta yükseltgeme yapabilir. Sıcaklık çok artarsa perklorik asit nitrik asidin çözünürleştirme gücünü azaltabilir. Ayrıca bazı metallerin susuz perklorat tuzları patlayıcıdır. Perklorik asidin organik maddeleri kapalı sistemde çözünürleştirmede patlama riski vardır.

Hidrojen Peroksit: Genelde %30'luk hidrojen peroksit çözünürleştirme için yeterlidir. Hidrojen peroksit yüksek derişimde tek başına birçok organik bileşikle patlayıcı reaksiyon verir. Hidrojen peroksit, oksitleme gücünü arttırmak için genelde başka asitlerle karıştırılarak kullanılır.

Sülfürik asitle kombinasyonu olan monoperoksosülfürik asit çok güçlü bir yükseltgeyicidir. Bu nedenlerle hidrojen peroksit çözünürleştirme işlemlerinde en çok tercih edilen asittir. Perklorik asit kullanımındaki gibi mikrodalga kapalı bozundurma işlemlerinde patlama riski vardır.

3.5.2 Yakma yöntemleri

Kuru kül etme: Organik maddelerin parçalanması işleminde kullanılan en basit ve yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Tayin edilecek elementi içeren numune bir kapsül ya da kroze içine konularak kül fırınında yakılır. Yapıda bulunan bütün karbonlu maddeler karbon dioksite yükseltgeninceye kadar ısıtma işlemi sürdürülür.

Bu yöntem basit olmasına rağmen çok hassas değildir. Uçucu olmayan bileşikler katı halde kalır ve hesaplamalarda hatalara neden olur. Bunun yanında uçucu bileşik oluşması durumunda da sorunlar çıkabilir. Bu da analizi yapılacak elementinde diğer uçucu bileşenlerle beraber buharlaşma tehlikesidir.

Sızdırmaz bir kap içerisinde oksijenle yakma: Kuru kül etme metodu gibi basit bir yöntemdir bunun yanında bu yöntemle daha iyi sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu yöntemde numune sızdırmaz bir kapta oksijen ile yakılır. Reaksiyon kabı açılmadan önce yanma reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan ürünlerin uygun bir çözücü içinde absorplanması sağlanır. Son olarak bu maddeler uygun yöntemler kullanılarak analiz edilir. Bu yöntem kolay uygulanabiliyor olması nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir.

Yakma tüpü yöntemi: Organik birçok maddenin analizi genellikle oksijenle yakmak suretiyle gerçekleştirilir. Yalnız böyle bir işlemde en önemli sorun uçucu bileşiklerin kantitatif analizinin zor olmasıdır. Numunedeki bileşenlerin uçucu hale gelerek kaybolmasını önlemek amacıyla uçucu bileşenleri tutabilen aletler üretilmiştir. Yaygın olarak cam veya kuvars yakma tüpü ısıtma amaçlı olarak kullanılır. Geçirilen gaz karbon, oksijen, hidrojen, kükürt ve halojenlerle yükseltgen olarak etkir. Sağlanan gaz akımıyla uçucu bileşenler cihazın ölçme ile ilgili kısmına gelir. Böylelikle uçucu bileşenlerin miktarı tespit edilir. Bu aletlerin kullanımı kolay ve analiz süresi oldukça kısadır.

3.5.3 Eritiş ile parçalama

Eritiş hazırlamak suretiyle birçok inorganik maddenin parçalanması mümkündür. Bazı mineral alaşımları, silikatlar ve birkaç demir alaşımı sıvı reaktiflerden yavaş etkilendiği için bu maddeleri çözebilmek için eritiş maddelerine ihtiyaç vardır. Eritiş maddesi bir alkali metal tuzu ile karıştırılır. Sonra bu karışım suda çözülür. Örneğin; $CaCO_3$ ve NH_4Cl karışımı ısıtıldığında, CaO ve $CaCl_2$ oluşur; bunlar silikatları parçalayabilirler.

Yüksek sıcaklıkta hazırlandıklarından ve konsantrasyonları büyük olduğundan dolayı eritişler birçok maddeyi parçalama özelliğine sahiptir. Eritiş kullanımı genelde bir yaş çözme işleminden sonra olur. Yani öncellikle numune bir sıvı reaktifle muamele edilerek numunenin çözülmesi sağlanır. Sonra çözünmeden kalan kalıntı süzülerek ayrılır. Nihayetinde bu katı ile bir eritiş maddesi muamele edilir. Karışım soğutulduktan sonra eriyik çözülür ve numunenin esas çözeltisiyle birleştirilir.

Eritiş çeşitleri: Eritiş maddesi olarak genellikle alkali metal bileşikleri kullanılır. Eritişler; asidik, bazik ve yükseltgen eritişler şeklinde ayrılabilirler. Asidik maddeler

etki eden bazik eritişler karbonatlar, boratlar, hidroksitler ve peroksitlerdir. Borik oksit, asit florürler ve pirosülfatlar ise asidik eritişlerdir. Yükseltgen özellikte bir eritiş olarak ise sodyum peroksit ya da az miktarda alkali nitrat ve kloratları Na_2CO_3 ile karıştırılmasıyla oluşan karışım kullanılabilmektedir.

3.5.4 Mikrodalga ile parçalama

Asit çözünürleştirme örnek 100-500 p si basınç ve 50-180°C sıcaklıkta nitrik asit veya hidroklorik asitle çözünürleştirilir. Çözünürleştirme işlemleri ile örnekler daha basit yapılara ayrılırlar. Bu çözünürleştirme tekniği Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'de veya İndüktif Eşleşmiş Plazma'da eser metal analizi için sıklıkla kullanılır.

Mikrodalga çözünürleştirme özel yapılmış kaplarda asitlendirilmiş örnek belirli bir basınç ve sıcaklıkta kontrollü olarak çözünürleştirilir. Kapalı veya açık sistem çözünürleştirme yöntemleri uygulanabilmektedir.

Yüksek basınçlı işlemler

- Biyolojik ve
- Organik örneklere uygulanmakta,

Daha düşük basınçlı işlemler ise;

- Yağ analizlerinde,
- Çevresel analizlerde ve
- Katalizör analizlerinde kullanılmaktadır.[35]

TarihselGelişimi

1975'de mikrodalgalar hızlı ısıtma kaynağı olarak açık sistem-yaş çözünürleştirme işlemleri için kullanıldı. Erlenmayer içindeki asitlendirilmiş örneklerin biyolojik matriksleri 5-10 dakikadan 1-2 saatte kadar mikrodalgalarla bozunuyordu.

Bu işlem yeni örnek hazırlama tekniklerinin araştırılmasını ve geliştirilmesini sağladı. İlk araştırmacılar cam ve teflon kapları kullanarak mikrodalga fırında örnekleri asidin kaynama noktasına kadar ısıtarak çözünürleştirme işlemini gerçekleştiriyorlardı.

1980’de araştırmacılar tepkimenin hızını arttırmak ve çözünürleştirme zamanını kısaltmak için özel olarak tasarlanmış kapalı kapları kullanarak reaksiyon sıcaklığını asidin atmosferik kaynama noktasının üzerine çıkardılar.

Kapalı sistem mikrodalga kapları, teflon ve polikarbonattan yapılmıştı ve özel olarak mikrodalga fırın için geliştirilmemişti. Kapalı sistem mikrodalga sisteminde reaksiyonun hızı ve çözünürleştirme süresini ayarlamak için sıcaklık ve basınç gösterimine dalga boyu parametresi de eklendi.

1985’de ilk mikrodalga fırın kullanıma sunuldu. İlk olarak güvenlik özellikleri eklenerek ev kullanımı için geliştirildi. Daha sonra asit ve elektriksel etkilere karşı izolasyon ve havalandırma sistemi eklendi.

Mikrodalga fırında sonraki gelişme ceketli kaplardı. Teflondan yapılan bu kaplar polietermit kaplıydı ve 60-110 atm basınca kadar dayanabiliyorlardı.[36]

Günümüzde ise günlerce sürebilecek çözünürleştirme işlemleri sadece 10-15 dakika gibi kısa sürede yapılabilir hale gelmiştir.

Mikrodalga çözünürleştirme yöntemi diğer yöntemlere göre oldukça hızlı ve daha doğru sonuçların alınmasını sağlamaktadır.

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre, İndüktif Eşleşmiş Plazma, İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrofotometre ve diğer yöntemlerle yapılacak analizlerde mikrodalga fırınlarda hazırlanan örneklerle hızlı, doğruluğu ve tekrarlanabilirliği yüksek sonuçlar alınabilmektedir.

Yeni sistemlerde basınca dayanıklı 36 kap aynı anda kullanılabilmekte, 300-600 W arası güç uygulanabilmekte, sıcaklık 300°C’ye kadar, basınç ise 1500 psi ’ye kadar ulaşabilmektedir [37].

3.6. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) ışığın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonunun ölçülmesi ilkesine dayanır. Işığı absorplayan atomlar, temel enerji düzeyinden kararsız uyarılmış enerji düzeyine geçerler ve absorpsiyon miktarı temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır.

3.6.1Absorpsiyonun temel kuralları

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi serbest atomların ışık absorplaması esasına dayanır. Kuantum teorisine göre, hv enerjili bir foton atom tarafından absorplanırsa , atomun temel enerji seviyesindeki değerlik elektronu enerjisi daha büyük olan enerji seviyesine geçer. Bu şekilde atom uyarılmış olur. Bu geçişe ait enerjinin değeri Planck eşitliği ile verilir [38].

$$\Delta E = E_i - E_o = h\nu = hc/\lambda \quad (4.1)$$

Burada;

E_1; Temel seviyelerin enerjisi

E_0; Uyarılmış seviyelerin enerjisi

h; Planck sabiti

c; Işık hızı

v; Absorplanan ışığın hızı

Lambert 1760 yılında homojen bir ortamdan geçen ışık miktarının, bu ortamın ışığın geçtiği yöndeki kalınlığı ile üstel bir şekilde azaldığını, fakat ortama gelen ve geçen ışınların şiddetlerinin birbirine oranının ışık şiddetinden bağımsız olduğunu bulmuştur [33].

$$I = I_o . e^{-xd} \quad (4.2)$$

Burada; I_0 ve I; Sırasıyla gelen ve geçen ışınların şiddetleri

d; Ortamın kalınlığı (ışının ortamdan geçtiği yol)

K; Adsorpsiyon katsayısıdır.

K, Absorplayan maddenin cinsine bağlı olarak derişimle orantılıdır.

$$x = k.c \quad (4.3)$$

Burada; C; Derişim; k; Orantı sabiti;

Lambert kanunu Beer tarafından bugün kullanılan şekline dönüştürülmüştür;

$$A = \log I_0 / I = kdC \quad (4.4)$$

Burada; A; Absorbans; k; Absorptivite katsayısıdır.

Absorbans;

- Işığın geçtiği tabakanın kalınlığına,
- Absorplayan maddenin miktarına bağlıdır.

Absorptivite katsayısı ise;

- Dalga boyuna ve Absorplayan maddenin cinsine bağlıdır.

3.6.2 Atomik spektrum ve hat genişlemesi

Atomikabsorpsiyon hatlarının genişlemesine etki eden faktörler şu şekilde sıralanabilir [39].

1) Tabii hat genişlemesi
2) Doppler genişlemesi
3) Basınç genişlemesi
4) İnce yapı genişlemesi

3.7 Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi (AAS)

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, gaz fazındaki atomların UV ve görünür alan ışınlarını absorplaması temeline dayanır. En yaygın kullanım alanı olan şekli alev başlıklı atomik absorpsiyon (FAAS)' dur.

Fakat 1970'lerden itibaren gelişen teknoloji ile daha hassas ölçümlere ihtiyaç duyulmuş ve grafit fırın yöntemi (GFAAS veya ETAAS) geliştirilmiştir. Bunun ardından hidrür yöntemi (HGAAS) ve soğuk buhar yöntemi geliştirilmiş ve böylece ultra eser elementlerin pek çok örnekte tayini mümkün olmuştur [40].

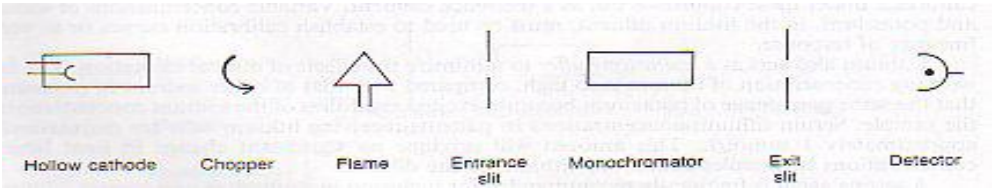


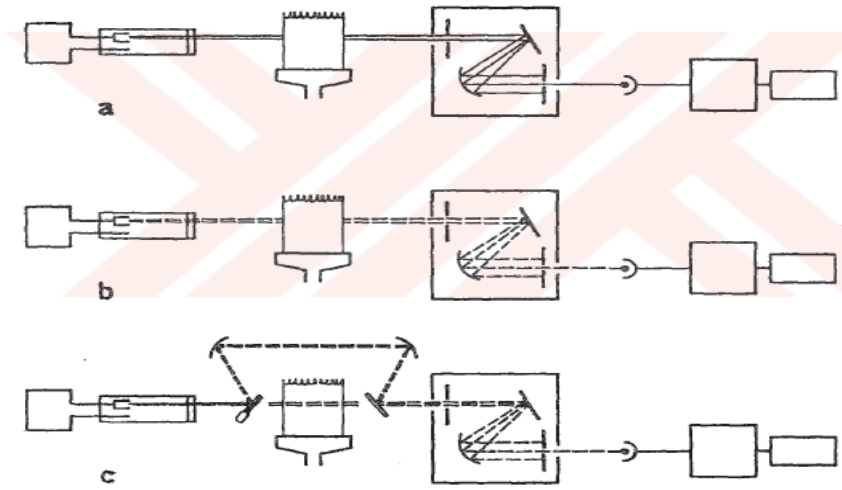
Şekil 3.2. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi

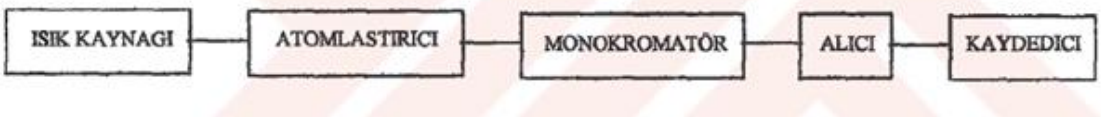
AAS, ışığın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonunun ölçülmesi ilkesine dayanır. Bu ilkeye göre madde konsantrasyonu tayini yapmada kullanılan cihazlar atomik absorpsiyon spektrofotometreleridir. Işığı absorplayan atomlar, temel enerji düzeyinden karasız uyarılmış enerji düzeylerine geçerler ve absorpsiyon miktarı, temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır.

İlke olarak diğer absorpsiyon spektrofotometrelerine benzeyen atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinin en önemli bileşenleri (Şekil4.4);

- Analiz elementinin absorplayacağı ışımayı yayan ışın kaynağı,
- Analiz çözeltisinin atomik buhar haline getirildiği atomlaştırıcı,
- Çalışan dalga boyunun diğer dalga boylarından ayrıldığı monokromatör,
- Işık şiddetinin ölçüldüğü detektördür.
- Absorpsiyon sonuçlarını veren readout'tur. [41]







Şekil 3.3 Bir atomik absorpsiyon spektrofotometresinin işlem sırası

Atomik absorpsiyon ölçümleri için kullanılan üç değişik tür spektrofotometre Şekil (4.4) ‘de görülmektedir.

a) Tek ışık yollu doğru akım spektrofotometresi: Bu sistemde ışık kaynağından ve atomlaştırıcıdan gelen ışık kesiksizdir ve dedektörde bir doğru akım oluşturur.

b) Işık kaynağından çıkan ışık kesikli olarak, atomlaştırıcıdan çıkan ışık ise kesiksiz olarak dedektöre ulaşır. Kesikli ışık dedektörde alternatif bir akım oluşturduğundan bu alete tek ışık yollu, alternatif akımlı (a.c) spektrofotometre denir. Atomlaştırıcıdan gelen ışık ihmal edilebilir bir değerde kalır.

c) Çift ışık yollu alternatif akımlı (a.c) sistem: Burada kullanılan ışık dilici (chopper) ışık kaynağından çıkan ışığı sırasıyla atomlaştırıcının içinden ve dışından geçirir. Bu iki ışık dedektöre sırayla ulaşır ve detektöre ardarda gelen bu sinyallerin şiddetlerinin oranını ölçer. Her iki ışık dedektöre sırayla ulaşır ve dedektöre ardarda gelen bu sinyallerin şiddetlerinin oranını ölçer [42].

3.7.1.Işın kaynakları

AAS’de ışın kaynakları numunedeki atomların absorplayacakları ışınları yayan cihazlardır. Atomik absorpsiyon çalışmalarında kullanılan ışık kaynaklarına ait emisyon hatlarının, absorpsiyon hattından dar olması istenir. Bu yüzden, sürekli bir ışın kaynağı kullanarak absorpsiyon hattını ayırmaya çalışmak yerine, absorpsiyon hattından daha dar bir emisyon hattı veren bir spektral kaynak kullanmak alet tasarımı açısından çok büyük bir kolaylık sağlar. Geniş hatlı kaynakların kullanılması halinde ölçülen absorbans değeri hat genişliğine bağlı olarak azalır. AAS’nin gelişimindeki en büyük adım, dar hatlı emisyon veren oyuk katot lambalarının Walsh tarafından ışık kaynağı olarak kullanılması olmuştur.

AAS’de kullanılan başlıca ışın kaynakları;

- Oyuk katot lambaları (çok ve tek elementli),
- Yüksek ışımalı oyuk katot lambaları,

- Buhar boşalım lambaları,
- Elektrodsuz boşalım lambaları,
- Alev ve sürekli ışık lambalarıdır.

Oyuk Katot Lambaları: Oyuk katot lambaları atomik absorpsiyonda en çok kullanılan ışık kaynaklarıdır. İlk kez 1916 yılında Paschen tarafından dizayn edilmiştir [43]. Atomik Absorpsiyonda kullanılmaya başladıktan sonra Walsh ve arkadaşları oyuk katot lambalarının yapısını geliştirmiş ve basitleştirmişlerdir [44,45].

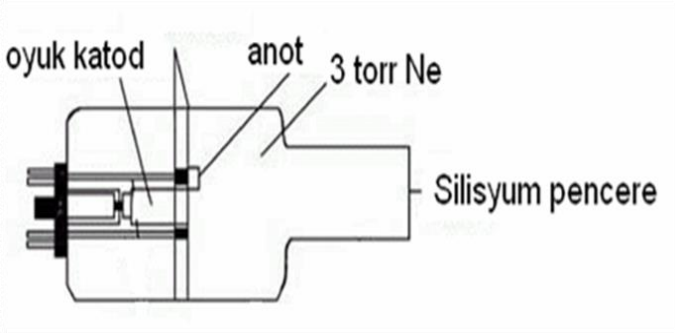
Düşük basınçta (birkaç mm Hg) neon veya argon gibi inert bir gaz ile doldurulmuş silindirik bir tüptür. Katot yaklaşık 1 cm çapında oyuk silindir biçiminde olup, ya analiz elementinin çok saf metalinden veya uygun bir alaşımından yapılmıştır. Anot ise nikel veya tungstenden yapılmış bir teldir. Uygulanan 100-400 V gerilimde, 2-40 mA akımla oluşan boşalım sonucu lamba içinde yeterli enerjiye sahip inert gaz iyonları meydana gelir. Bu iyonlar katota çarparak, katot yüzeyinden metal atomlarını koparırlar ve bir atom bulutu oluştururlar. Bu atomların bir kısmı iyon ve elektronlarla çarpışarak uyarılırlar ve temel seviyeye dönerken katottaki elementin karakteristik spektrumunu yayarlar.

İnert gazın cinsi ve basıncı,

- Katot maddesinin seçimi,
- Uygulanan gerilim ve akım,
- Lamba spektrumunun şiddeti ve
- Hat genişliğine bağlıdır.

Emisyon spektrumunun saf olması, yani söz konusu element dışında başka spektrum vermemesi için oyuk katot lambalarının katotları çok saf metalden yapılmalıdır. En saf metal elektroliz ile oluşturulacağından katot muhtemelen biraz adsorbe olmuş hidrojen içerebilir. Özellikle lamba eskidikçe ortamda hidrojen görülmeye başlar. Ortamda hidrojen varsa, hidrojenin düşük uyarılma gerilimi ortamın

uyarılma enerjisini azaltır ve lambanın parlaklığı azalır. Ayrıca hidrojen UV bölgede çok şiddetli sürekli bir spektrum verir. Bu zemin ışıması tayin elementinin yaptığı ışımayı relatif olarak zayıflattığı için duyarlık azalır.



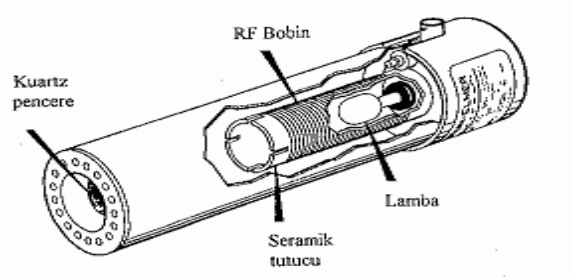
Şekil 3.4. Oyuk Katot Lambası

Lambanın emisyon şiddeti, akım şiddeti ile arttığından, bu yolla duyarlığın arttırılabileceği düşünülürse de bu mümkün olmaz. Çünkü akım şiddetin artması ile, uyarılan atomların yaptıkları ışımanın, katotun hemen önünde temel seviyede bulunan metal atomları tarafından absorplanması olayı olan self-absorpsiyon ve Doppler genişlemesi artar ve duyarlık azalır. Bu sebeple uygun lamba akımı seçilmelidir.

Atomik absorpsiyon analizlerinde genel olarak her element için ayrı bir ışık kaynağının kullanılması, yöntemin başlıca dezavantajlarından birisidir. Bu sebeple çok elementli oyuk katot lambalarının kullanılması düşünülmüştür. Bu tür ışık kaynaklarının katodu alaşımlardan, metalik bileşiklerinden veya toz haline getirilmiş metallerin karışımlarından yapılır. Çok elementli lambalarda, her bir elementin emisyon şiddeti, tek elementli oyuk katot lambası ile elde edilen emisyondan daha zayıftır. Bazı durumlarda bunun tersi bir durum da olabilir. Örneğin; çinko-kalsiyum lambasının çinko emisyonunun tek elementli çinko lambasından elde edilen emisyondan daha parlak olduğu bilinmektedir. Bu dezavantajlarına rağmen, çok elementli lambalar pratikliği sebebiyle analizlerde büyük yarar sağlarlar.

Piyasada çeşitli oyuk katot lambaları mevcuttur. Bazılarının katodu birkaç metalin karışımını içerir; bu lambalar tek bir element yerine birkaç elementin tayininde kullanılır [46].

Elektrodsuz Boşalım Lambaları (EDL): Elektrodsuz boşalım lambaları hem atomik absorpsiyon hem de atomik floresans spektrometresinde kullanılır. As, Se, Sb gibi uçucu ve küçük dalga boylarında absorpsiyon ve emisyon yapabilen elementler için geliştirilmişlerdir. Bu lambaların ışık şiddetleri, oyuk katot lambalarına oranla birkaç kat daha fazladır. Elektrodsuz boşalım lambalarında elektrotlar lambanın dış çeperlerine yerleştirilmişlerdir. 1-2 cm boyunda ve 5-10 mm çapındaki kuartz bir tüpe düşük basınçta argon gazı ile analiz elementinin 1-2 mg'ı yerleştirilir ve kuartz tüpün dış çeperi ile temastaki elektrotlar arasında 200 watt'lık bir güç ile uyarma sağlanır [42].



Şekil 3.5. Elektrotsuz boşalım lambasının kesiti.

Buhar boşalım lambaları: Buhar boşalım lambaları, lamba içinde buhar halinde bulunan analiz elementinden akım geçirilmesi ile emisyon yaparlar. Civa, talyum, çinko, kadmiyum gibi çok uçucu metallerin tayininde ucuz olmaları ve yüksek ışık şiddeti vermeleri nedeniyle tercih edilirler [33].

Uyarma lambaya uygulanan elektrik akımı ile sağlanır. Uygulanan akım oyuk katot lambasına uygulanandan fazladır. Bu tür lambalarda self-absorpsiyon yüksektir. Bunu önlemek için, uygulanan akım düşürülse de bu defada lambanın kararlılığı bozulur. Oyuk katot lambalarının geliştirilmesi ile bu lambalar atomik absorpsiyon analizlerinde önemlerini kaybetmişlerdir.

Alev'in ışık kaynağı olarak kullanılması, ucuzluğu, evrensel olması ve istenen özelliklere göre ayarlanabilir olması nedeniyle avantajlı, kararsız oluşu, emisyon şiddetinin zayıf olması, optimum koşullarda emisyon ve absorpsiyon hat genişliklerinin aynı olması nedeniyle de dezavantajlıdır [42].

Yüksek ışımalı lambalar: Sullivan ve Walsh tarafından geliştirilen yüksek ışımalı lambalarda standart oyuk katottan başka bir çift yardımcı elektrot bulunmaktadır. Normal oyuk katot lambalarında katotta oluşan bütün atomlar uyarılmaz. Sadece uyarılan atomlar ışıma yapabileceklerinden yardımcı elektrotların amacı geriye kalan temel seviyedeki atomları uyarmak için gerekli ikinci akımı geçirmektir. Böylece ışın şiddetinde oyuk katot lambasına göre 50-100 kat bir artış görülür. Buna rağmen yüksek ışımalı lambalar yapısının karmaşıklığı ve ikinci bir güç kaynağı gereksinimi nedeniyle bazı özel çalışmalar dışında pek kullanılmaz.

Sürekli ışık kaynakları (hidrojen veya döteryum lambaları, yüksek basınçlı ksenon lambaları) : Atomik Absorpsiyon için ilk bakışta çok çekici ışık kaynaklarıdır. Bunların emisyonu kararlıdır ve özellikle birden fazla element analizinde kullanışlı ve ucuzdurlar. Kararlılıkları iyidir ve geniş bir dalga boyu aralığında ışıma yaptıklarından her element için ayrı bir lamba gerekmez. Fakat atomlar çok dar bir frekans aralığında absorpsiyon yaptıklarından, sürekli ışık kaynağının yaydığı geniş dalga boyu aralığındaki ışımanın atomlar tarafından absorplanan miktarı ölçülemeyecek kadar küçüktür. Bu nedenle sürekli ışık kaynaklarının atomik absorpsiyon spektroskopisi yönteminde kullanılmaları uygun değildir [42].

Son yıllarda CCD (charge coupled device) dedektörlerinden yararlanarak sürekli ışın kaynaklarının kullanıldığı atomik absorpsiyon spektrofotometreleri geliştirilmiştir. Bu sayede çok sayıda element hemen hemen aynı anda tayin edilerek AAS'deki her element için lamba değiştirme dezavantajı ortadan kaldırılmaktadır [47].

3.7.2 Atomlaştırıcılar

Absorpsiyon hücresi olarak da adlandırılan atomlaştırıcının görevi, örnekteki iyonlardan ve moleküllerden, analizi yapılacak elementin temel düzeydeki atom buharını oluşturmaktır. AAS' de analizin başarısı atomlaşmanın etkinliğine bağlı olduğundan, düzeneğin en önemli bileşeni atomlaştırıcıdır. Çünkü atomlaştırıcının çalışma şartları, elementin atomlaşma verimini etkiler. Elementin atomlaşma verimi ise analiz duyarlılığını belirleyen önemli bir faktördür.

AAS'de 1970 yılına kadar üzerinde en çok çalışılan ve en yaygın kullanılan atomlaşma tekniği örneğin çözelti halinde aleve püskürtülmesidir. Daha sonra alevsiz atomlaştırıcılar (grafit fırın tekniği, hidrür tekniği ve soğuk buhar tekniği) eser element veya ultraeser element analizinde büyük önem kazanmıştır.

Atomlaştırıcılar 5'e ayrılır:

a. Alevli Atomlaştırıcılar,

b. Elektrotermal Atomlaştırıcılar,

c. Akkor Boşalımlı Atomlaştırma,

d. Hidrür Oluşturma,

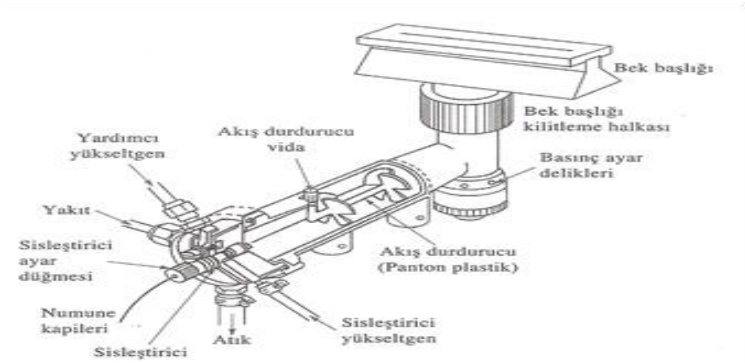
e. Soğuk-Buhar Atomlaştırma [48]

Alevli Atomlaştırıcılar: Alevli atomlaştırıcılarda örnek çözeltisi aleve bir nebulizer (sisleştirici) yardımıyla püskürtülür. Çözelti aleve püskürtüldüğü zaman ilk olay, damlacıkların kuruması yani çözücünün buharlaşmasıdır. Buharlaşma hızı, damlacıkların büyüklüğüne ve çözücü türüne bağlıdır. Buharlaşma sonucu oluşan katı parçacıklar erir, buharlaşır ve atomlaşır. Alevde organik bileşikler yanarken, inorganik maddeler buharlaşır veya birbirleriyle ve alev gazlarıyla tepkimeye girerler. Çözeltideki taneciklerin buharlaşmasından sonra oluşan gaz moleküller, ısısal ayrışma ile atomlarına ayrılırlar. Alev içinde analiz elementinin atomlarından başka CO_2, CO, C, H_2O, O_2, H_2, H, OH, NO, N_2 gibi birçok yanma ürünleri de oluşur vebunlarbazenaşırımiktardaolabilir [41].

Ayrıcaalevdeçeşitlitürlerarasındakidengetepkimelerisonucundayenibileşikler oluşur. . Eğer iki ayrı denge tepkimesi sonucu aynı ayrışma ürünü oluşuyorsa, tepkime ürünlerinin kısmi basıncı nedeniyle bu iki tepkime birbirini etkileyecektir. Ayrışmanın bu şekilde zayıflamasından başka analit atomlarının derişimi iyonlaşma ve/veya başka bir anyonla tepkimeye girmesi ile de etkilenebilir. Bu nedenle alevdeki olaylar son derece karmaşıktır [49].

Alevdeki gazların ve dolayısıyla örnek bileşenlerinin alevdeki hızı, örneğin atomlaşması için gerekli süre gibi faktörler alevde ölçüm yapılacak bölge için oldukça önemlidir. Bu nedenle atomlaşmanın mümkün olduğunca çabuk olması istenir. İyi bir absorbans ölçümü, atomlaşmanın tam olarak gerçekleştiği, alevin en iyi olduğu durumda yapılmalıdır. Genellikle, alev atomlaşmanın tam olmasını sağlamalı ve alev gazlarının tutuşma ürünleri ya da örnekteki bileşenlerle analiz elementinin ikincil reaksiyonlarından kaçınılmalıdır. Alev sıcaklığının belirli sınırlar içinde büyük bir önemi yoktur, alevin yükseltgen ya da indirgen karakteri ise oldukça önemlidir.

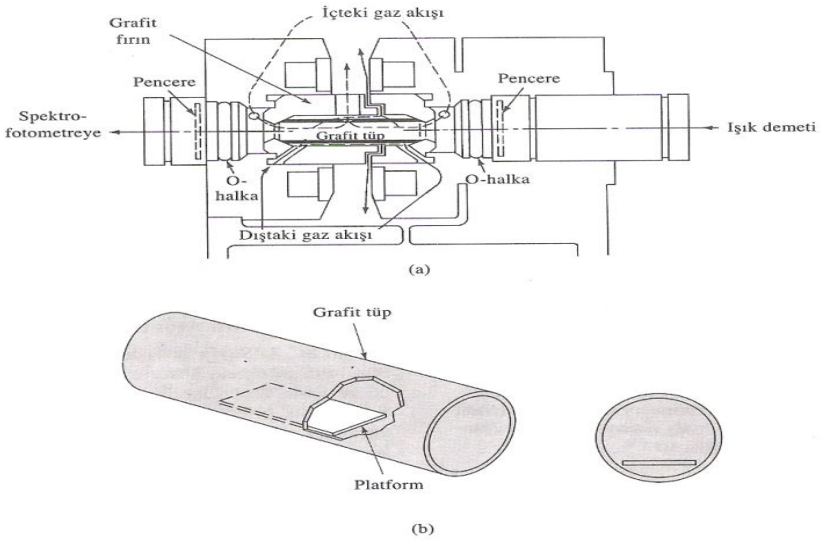
Atomik absorpsiyon spektrometresinde analiz edilen element türüne bağlı olarak hava/asetilen veya azot/ protoksit/asetilen en çok kullanılan alev türüdür. Kullanılan alev, optik olarak geçirgen olmalıdır. Yani alevin kendisi herhangi bir absorpsiyon yapmamalı ve eğer mümkünse, atomlaşma, nicel olmalıdır. Tam olmayan atomlaşma, yalnız daha az atom oluşmasına değil, aynı zamanda ışık saçılmasına yol açabilecek katı veya sıvı taneciklerin alevde ve dolayısıyla ışık yolunda bulunması demektir.



Şekil 3.6. Bir laminar akışlı bek[50]

Elektrotermal Atomlaştırıcılar (ETAAS): Elektrotermal atomlaştırıcılar, gaz halinde serbest metal atomları oluşturmak için elektrikle ısıtılan grafit çubuklar, metal şeritler, metal bobinler ve grafit tüplerdir. En çok kullanılan elektrotermal atomlaştırıcı, dirençle ısıtılan grafit tüptür. Bu tip atomlaştırıcılar grafit fırınlı AAS olarak adlandırılır. Şekil ’de grafit tüplü bir fırının basit bir şeması görülmektedir. Bu fırınlarda örneğin grafit tüpe enjekte edildiği küçük bir delik bulunmaktadır. Kaynaktan gelen ışın tüpün içersinden geçer. Bu fırınlarda örneğin atomik türlerinin fırın duvarlarına difüzlenmesini

önlemek için genellikle pirolitik grafit ile kaplanır. Pirolitik grafit, karbonun inert atmosferde ısıtılmasıyla hazırlanır. Ayrıca fırın oksidasyona karşı Ar veya N_2 ile korunur.



Şekil 3.7.a) Bir grafit fırının kesiti b) L'vov platform ve grafit fırındaki durumu [50]

Ayrıca tüpün orta ve uç kısımları arasında 2500 ^{o}C ile 800 ^{o}C arasında değişen sıcaklıklar ölçülmüştür. Bu problemleri ortadan kaldırmak için L'vov ve arkadaşları örneğin direkt olarak grafit tüpün duvarlarına verilmesi yerine, tüpün içerisine yerleştirilen bir platforma verilmesini önerdiler.

Sonuç olarak örneğin platform üzerinden atomlaşması tüp yüzeyi ve gaz fazı sıcaklığını analit atomlaşma kararlı sıcaklığa gelene kadar geciktirilmiş olur. Slavin ve arkadaşları L'vov platformun tek başına yeterli olmadığını belirterek Stabilized Temperature Platform Fırın (STPF) tekniğini geliştirdiler. Bu teknik atomlaşma basamağında hızlı ısıtma ve gaz akışının kesilmesi, pik yüksekliği yerine pik alanı değerlendirme, pirolitik (kaplı) grafit platform ve tüp ve Zeeman etkili zemin düzeltme kullanımını içermektedir.

Genellikle 10-50 µl arasındaki sıvı örnek, örnek verme oyuğundan, soğuk tüpün içine (tüp duvarlarına) veya tüpün içindeki platforma verilir. Bu amaçla otomatik

pipetler veya daha yaygın olarak otomatik örnekleyiciler (autosampler) kullanılmaktadır. Tüp daha sonra programlanabilir bir güç kaynağı yardımıyla ısıtılır.

Elektrotermal atomlaştırmada temel olaylar [51]

ÇÖZELTİ
⇓
KURU ÖRNEK
⇓
BUHAR
⇓
MOLEKÜL
⇓
ATOM

Grafit Fırında Isısal İşlemler ve Sıcaklık Programı

Analitik fiziksel ve kimyasal karakteristikleri onun fırındaki davranışını belirler. Analitin kimyasal çevresi olarak tanımlanan matriks (ortam) de önemlidir. Bu yüzden atomlaşma şartları ortama göre belirlenmelidir. Bu şartlar sıcaklık-zaman ilişkisi ile tayin edilir. Grafit fırında bu işlemler aşağıda açıklanan basamakları kapsar.[52]

- **Kurutma Basamağı:** Bu basamakta örneğin çözücüsü buharlaştırılır. Kurutma, kontrollü olmalıdır. Çözücünün buharlaşmasının yavaş ve düzgün olması sağlanmalıdır. Çözücünün hızlı kaynaması, örneğin köpürmesine ve sıçramasına sebep olur. Bazı örnek tanecikleri gaz akışı ile tüpün dışına taşınabilir. Gerekli ısıtma zamanı örnek türüne göre değişir. Sudan farklı çözücüler ile kurutma sıcaklığı ve gerekli zamanın farklı olması, çözücülerin kaynama noktası ve yüzey gerilimlerinin farklı olmasından dolayıdır. Sulu çözeltiler için (yaklaşık 30s) 110^{o}C'ye kadar ısıtma yapılır. Sıçramaları önlemek için kurutma basamağında sıcaklık yeterince düşük olmalıdır.

- **Isısal Ön İşlem Basamağı:** Bu basamakta analit, girişime sebep olan matriks bileşenlerinden ayrılır. Biyolojik örnekler karbona parçalanır ve çok miktarda is ve duman oluşur. İnorganik bileşenler damıtılır, süblimleşir veya parçalanır. Şayet bu işlem analitin atomlaşması ile aynı zamanda olursa, doğru absorpsiyon sinyalinin ölçülmesi mümkün olmaz.

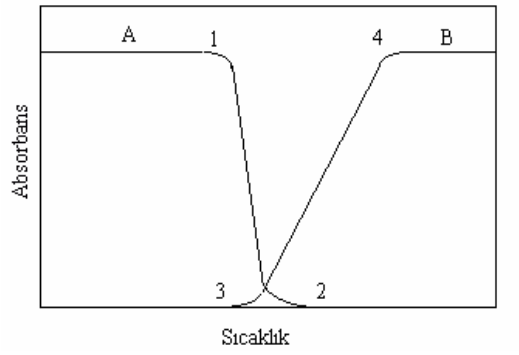
- **Atomlaşma Basamağı:** Bu basamakta ise sıcaklık tayin elementinin gaz atomlarının oluştuğu noktaya kadar yükseltilir. Genellikle bu sıcaklık (yaklaşık 5s) 2000-3000^{o}C arasındadır. Tayin elementinin absorpsiyonu atomlaşma basamağı sürecince ölçülür.

Bu basamakta genellikle atomlaştırıcıdan geçen gaz akışı kesilir veya bazı durumlarda azaltılır. Analitin bulunduğu çözeltiden grafit fırında atom oluşumu, örneğin bileşimi ve analitin davranışına bağlıdır.

Şayet atomlaşma moleküller üzerinden gerçekleşiyorsa atomlaşma, bileşiklerin ısısal ayrışması veya grafit yüzeyde metal oksitlerin indirgenmesiyle olabilir.

Şayet atomlaşma metal üzerinden gerçekleşirse atomlaşma, desorpsiyon veya buharlaşmayla yürür. Analitin atomlaşması, buhar basıncı 10-15 Pa civarında olduğu zaman 0,1 s içinde meydana gelir. Atomlaşma büyük ölçüde daha düşük buhar basınçlarında (sıcaklıkta) başlar, fakat atomlaşma zamanı uzundur. Bundan dolayı atomlaşma basamağına ulaşmak için geçen süre çok önemlidir.

- **Temizleme Basamağı:** Bu basamakta sıcaklık, atomlaşma sıcaklığından daha yüksek bir sıcaklığa yükseltilerek, yeni bir analiz için fırının hazırlanması sağlanır. Bu işlem ile fırında kalabilecek analit veya diğer matriks bileşenleri tamamen fırından uzaklaştırılır. Temizleme basamağını fırının soğuması izler. Yukarıda verilen bilgilerden anlaşılacağı gibi, atomlaşma verimi, özellikle ön işlem ve atomlaşma basamaklarının iyi optimize edilmesine bağlıdır. Bu sebeple herhangi bir örnekte bir analitin tayini öncesinde bu basamakların optimize edilmesi için ısısal ön işlem / atomlaşma sıcaklık eğrilerinin türetilmesi gerekir (Şekil 4.9).



Şekil 3.8. Isısal Ön İşlem (A: Atomlaşma, B:Sıcaklık Eğrileri)

1: Maksimum ön işlem sıcaklığı;

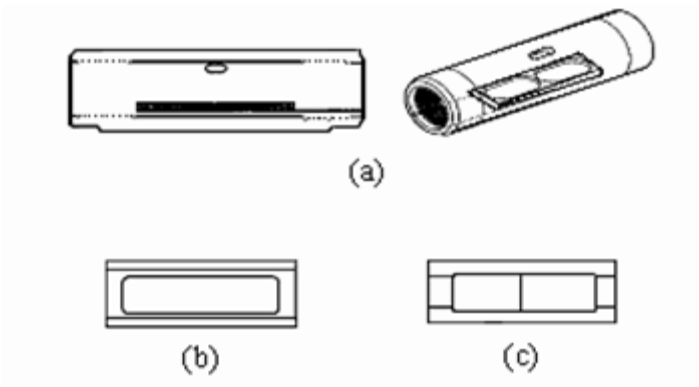
2: Analitin kantitatif olarak buharlaştığı en düşük sıcaklık;

3: Analitin görünüm sıcaklığı;

4: Optimum atomlaşma sıcaklığı.

Şekil 4.9'daki ilk eğride değişen ön işlem sıcaklığına karşı optimum atomlaşma sıcaklığındaki absorbans, ikinci eğride ise değişen atomlaşma sıcaklığına karşı optimum ön işlem sıcaklığındaki absorbans değerlerinin değişimi gösterilmiştir. Ön işlem eğrisi, örneğin analit kaybolmaksızın ısıtıldığı sıcaklıkları gösterir. Bu eğriden elementin kantitatif buharlaştığı en düşük sıcaklıkta çıkarılabilir. Atomlaşma eğrisinden atomlaşmanın ilk göründüğü (görünüm sıcaklığı) ve maksimum atom yoğunluğunun elde edildiği optimum atomlaşma sıcaklığı çıkarılabilir. Isısal ön işlem/atomlaşma eğrilerinden atomlaşma mekanizması hakkında sonuç çıkarmakta mümkündür.

- **Soğutma Basamağı:** Bu basamakta oda sıcaklığına kadar fırın soğutulur. Her basamak gerekirse birden fazla sıcaklık programı içerecek şekilde optimize edilmelidir [40].



Şekil 3.9. a)Grafit tüp b)Tek oyuklu L'vov platform c)Çift oyuklu L'vov platform

Grafit fırınlıatomlaştırıcıların üstünlüklerini şu şekildesıralanabilir:

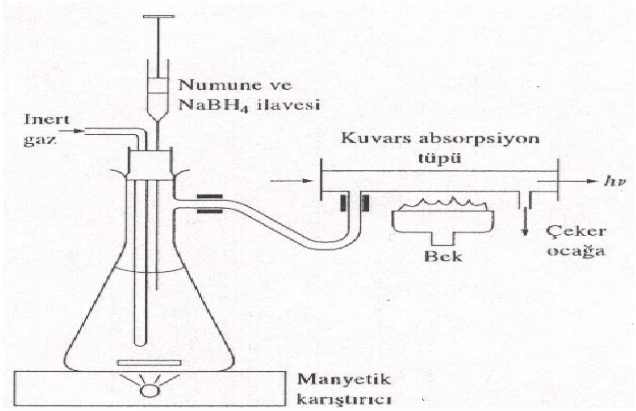
- Birçok metal için grafit fırında tayin sınırı alevden 100 ile 1000 kat daha düşüktür.
- 5 ile 50 µl gibi oldukça küçük örnek miktarı ile çalışılır. (Mikro analiz).
- Sıvı örneklerin tamamının çözelti olması gerekmemektedir. Grafit fırın, homojen süspansiyonların ve emülsiyonların analiz edilmesi için de kullanılmaktadır.

- Plastikler, tırnaklar, saç parçaları, toz haline getirilmiş bitki örnekleri, dokular ya da kaya gibi katı örnekler uzun bir ön işleme tabi tutulmadan analiz edilebilmektedir.
- Yanıcı bir gaz kullanılmadığı için daha güvenlidir.

Bütün bu avantajlara rağmen grafit fırın, alev tekniğinin yerini her zaman alamaz. Eğer örnek yüksek derişimde element içeriyorsa ve çözelti halinde ise bilinen alev teknikleriyle tayin yapmak daha doğrudur.

Grafit fırın bu durumda avantajlı değildir. Örnek içinde en çok bulunan bileşen analiz edilmek isteniyorsa, örneğin; bir kaya örneğinde silikon tayini gibi, grafit fırının yüksek duyarlılığı nedeniyle bu yöntem kullanılmaz [47].

Soğuk Buhar Yöntemi: Soğuk buhar tekniği, yalnızca civa tayinine uygulanan bir atomlaştırma tekniğidir; çünkü civa, düşük sıcaklıklarda yeterli buhar basıncına sahip olan tek metalik elementtir. Çeşitli organik civa bileşiklerinin zehirli olması ve çevredeki geniş dağılımları sebebiyle, birçok numunede civa tayini hayati öneme sahiptir. Bu analiz için seçilen yöntem, soğukta buharlaştırma ve sonra da atomik absorpsiyon spektrometri ile analiz etmedir. Bu yöntemde civa, önce yükseltgen bir karışımla muamele edilerek Hg^{2+} haline dönüştürülür; sonra $SnCl_2$ ile metalik hale indirgenir. Elementel civa, oluştuğu karışımdan, bir inert gaz akımıyla uzun absorpsiyon tüpü içine sürüklenir. Analiz, 253,7 nm'de absorbans ölçümü ile tamamlanır. Gözlenebilme sınırı ppb aralığındadır [46].



Şekil 3.10 Atomik absorpsiyon spektrometri için hidrür oluşumu ve atomlaştırma sistemi

3.7.3. Monokromatörler

AAS'de monokromatör olarak prizma veya optik ağ kullanılır. Prizmalar, kuvars malzemeden yapılmıştır. Absorbansın ölçülmesi sırasında, ışık kaynağından gelen polikromatik ışıktan tek bir dalga boyunda ışık seçilerek örneğe gönderilir.

Atomlar oldukça dar bir spektral aralıktan enerjinin sadece belli bir kısmını absorplar. Bu AAS için büyük bir avantajdır. Spektroskopik yöntemlerin çoğunda kullanılan aletin üstünlüğü doğrudan monokromatörün ayırma gücüne bağlı olduğu halde, AAS'de bu o kadar önemli değildir. AAS'de iki elementin birbirinden ayrılması, sadece oyuk katot lambasının emisyon hattının genişliği ile absorpsiyon hattının genişliğine bağlıdır ve normal bir monokromatörün ayırma gücünün altında değerlerdir. Monokromatörün, incelenen elementin rezonans hattını diğer elementlerin rezonans hatlarından ayırması yeterlidir.

3.7.4 Dedektörler

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde ışık sinyalini elektrik sinyaline çevirmek için fotoçoğaltıcılar kullanılır. Fotoçoğaltıcılar, Cs-Sb veya Cs_2O dinotlardan oluşmuştur.

Fotoçoğaltıcılar bir anot, ışığa duyarlı bir katot (fotokatot) ve dinotlardan ibaret bir vakum fotoseldir. Fotokatot yüzeyine çarpan ışık tarafından koparılan bir fotoelektron birinci dinoda doğru çekilir ve dinod üzerine gerilimle orantılı bir kinetik enerji ile çarpar. Bunun sonucunda birinci dinod üzerinden çok sayıda ikincil elektronlar fırlatılır ve bu ikincil elektronlar hızlandırılarak ikinci dinoda çarparak çok daha fazla sayıda elektron fırlatırlar ve bu işlem böylece sürer gider.

Bir dedektörün,

1- Işığa karşı duyarlı olması,
2- Işık şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi,
3- Üzerine düşen ışığa cevap verme, yani sinyal üretme süresinin kısa olması,
4- Kararlı olması ve üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılabilmesi istenir [41].

3.8 Atomik Absorpsiyon Spektrometrisinde Kantitatif Analiz

3.8.1 Lineer kalibrasyon yöntemi

Bütün şartlar sağlandıktan sonra derişimleri bilinen standart çözeltilerin absorbans değerleri derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek uygun bir kalibrasyon grafiği elde edilir. Nicel analiz, kalibrasyon grafiğinin doğrusal olduğu bölgede yapılır. Kalibrasyon grafiğinin doğrusalolduğu bu bölgeye "çalışma aralığı" denir. Daha sonra numunenin absorbansı okunarak grafik yardımı ile analiz elementinin derişimi bulunur.

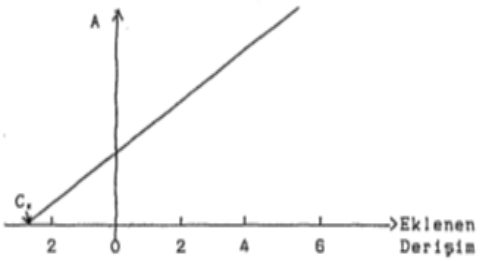
Standart çözeltiler genellikle 100 ppm 'lik stok çözeltilerden seyreltme yoluyla, numunenin muhtemel matriksine benzetilerek hazırlanır. Numunenin derişimleri kalibrasyon grafiğinde derişim ile absorbans arasındaki lineer ilişkinin sağladığı sınırlar içinde olmalıdır. Aksi takdirde numune seyreltilmelidir.

3.8.2 Standart ekleme yöntemi

Lineer kalibrasyon yöntemi ile yapılan analizler destandartlar tayin elementinin tuzundan hazırlanmış olup içinde örnekteki matriks bileşenleri yer almaz. Dolayısıylamatriksvarlığındaanalitinhassasiyetinindeğişmesihalindeörnektekive standartlardakianalitabsorbanslarınınkarşılaştırılmasıhatalısonuçlaranedenolur.

Beer kanununa göre absorbans, çözeltideki absorplayan tanecik derişimi ile orantılıdır. Fakat numune çözeltisindeki matriksten gelen bazı fiziksel veya kimyasal etkiler yanlış sonuçlar bulunmasına yol açabilir. Numunedeki matriks tam olarak bilinmiyorsa matriksin etkisini standart çözeltilerle tamamen gidermek mümkün olmaz. Yani numunedeki absorbans-derişim ilişkisi standart çözeltilerinkinden farklıdır. Bu gibi durumlarda, standart ekleme metodu kullanılır. Bunun için numune en az üçe ayrılır. Birinci kısım belli bir hacime kadar saf suyla seyreltilir. İkinci ve üçüncü kısımlara artan hacimde belli bir standart çözeltiden ekleme yapılır ve birincinin hacmine getirilir (gerekirse saf çözücü ilave edilir). Her çözeltinin absorbansı ölçülür ve eklenen element derişimlerine karşı absorbanslar grafiğe alınır. (İlave edilen standart derişimleri x ekseninde, absorbans değerleri y ekseninde gösterilir. Doğrunun ektrapolasyonu sonucu, yatay ekseni kestiği noktanın orjine uzaklığı numunenin derişimini verir.

Bu yöntemin başarısı analitin örnekte bulunan ve standart olarak ilave edilen formlarının aynı davranışı gösterip göstermediğine (yani hassasiyetlerinin farklı olup olmadığına) bağlıdır. Örneğin; örnekteki analit organik bileşiği halinde ancak standart olarak kullanılan analit inorganik bileşiği halinde ise ve bunların uçuculukları, kararlılıkları ve atomlaşma verimleri farklı ise sonuçlar hatalı olacaktır. Benzer farklı davranış aynı elementin farklı değerlikli türleri içinde geçerlidir [40,48].



Şekil 3.11. Standart Ekleme Kalibrasyon Graf.(C: Bilinmeyen numunenin derişim)

3.9 GFAAS'de Girişimler

AAS'de de, diğer yöntemlerde olduğu gibi, analizi yapılacak örneğin özelliklerine göre girişimlerle karşılaşılabilir. Bir element ya da molekülün başka bir elementin tayinini karıştırmasına girişim denir.

Atomikabsorpsiyonspektroskopisindegirişimlernedenlerinebağlıolarakspektral ve spektral olmayan girişimler olmak üzere iki ana grupta toplanmaktadır.

3.9.1 Spektral girişimler ve düzeltilmeleri

Tayini yapılan elementin absorpsiyon yaptığı dalga boyunun, ortamda bulunan diğer element veya moleküllerin absorpsiyon yaptıkları dalga boyları ile çakışması veya ışık kaynağından gelen ışığın ortamdaki buharlaşmamış partiküller tarafından saçılması olayları sonucu oluşur. Elementlerin rezonans hatlarının çakışması olayı kullanılan monokromatörlerin, dalga boylarındaki küçük farklılıkları ayırt edebilmelerinden dolayı çok az rastlanan bir durumdur.

Spektral girişimler aletsel olarak da düzeltilebilir. Gerçek aletsel zemin düzeltme yöntemleri şu şekilde sıralanabilir:

- Çift hat yöntemi,
- Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi,
- Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yöntemi,
- Zeeman etkili zemin düzeltme yöntemi,
- Smith Hieftje zemin düzeltme yöntemi.

Ayırma yöntemleri kullanılarak kimyasal olarak da yok edilebilirler [42].

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde aşağıdaki nedenlerden dolayı spektral girişimler artar:

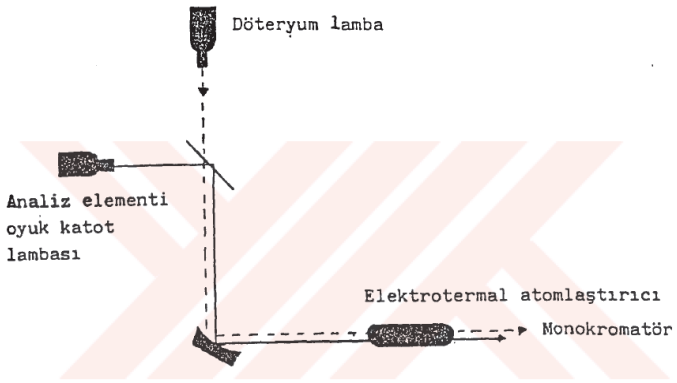
a- Bileşenlerin atomik yada moleküler hatlarının çakışmasıyla oluşan ışığın absorplanması,

b- Bileşenlerden oluşmuş olan buharlaşmamış partiküller tarafından kaynaktan gelen ışığın saçılması.

Çift Hat Metodu: Çift hat metodunda ilk ölçüm analiz elementinin atomik absorpsiyon tayini için kullanılan dalga boyunda ölçüm yapılır. Bu ölçüm analiz elementi absorbansı ile zemin sinyalini oluşturan türlerin absorbanslarının toplamını oluşturur. İkinci ölçüm analiz elementinin absorpsiyon yapmadığı ama absorpsiyon dalga boyuna en yakın dalga boyunda absorpsiyon yapan aynı veya başka bir oyuk katot lamba ile yapılır. İkinci ölçüm sadece zemin absorpsiyonunu verir.

Sürekli Kaynaklı Düzeltme Metodu: Zemin girişimlerinin düzeltilmesi için sürekli ışık kaynağı yönteminde, spektrofotometreye oyuk katot lambasına ek olarak, döteryum veya halojen lambası gibi geniş bir dalgaboyu aralığında ışıma yapabilen bir ışık kaynağı yerleştirilir. Bu iki kaynağın yaydığı ışımalar, aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi, bir ışık bölücü yardımıyla atomlaştırıcıya art arda ulaştırılır. Oyuk katot lambasının yaydığı ışık, atomlaştırıcıda bulunan analiz elementinin atomları ve zemin engellemesine neden olan türler tarafından absorplanır.

Daha önce de belirtildiği gibi, sürekli ışık kaynağının yaydığı ışığın analiz elementinin atomları tarafından absorplanan kısmı, lambanın yaydığı ışığın şiddetine oranla ihmal edilebilecek kadar azdır. Böylece, sürekli ışık kaynağının yaydığı ışımanın sadece zemin engellemelerine neden olan moleküller ve diğer türler tarafından absorplandığı kabul edilebilir.



Şekil 3.12. Zemin engellemelerinin düzeltilmesi için sürekli kaynak kullanımı gösteren sistem

Yukarıdaki şekilde zemin düzeltilmesi için çok kullanılan ikinci bir metot gösterilmektedir. Döteryum lamba ultraviole bölgede sürekli ışıma yapan bir kaynaktır. Işık dilicinin (Chopper) buradaki işlevi, oyuk katot lambadan ve döteryum lambadan gelen ışığın grafit tüpten sıra ile geçmesini sağlamaktır [41].

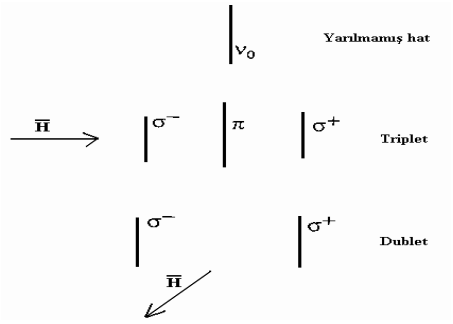
Self Absorpsiyonla Zemin Düzeltme: Metod yüksek akım uygulanarak katot lambadan yayılan ışığın self absorpsiyon ya da self reversalına dayanır. Yüksek akım uygulanarak büyük miktarda uyarılmış atom üretilir ve bunlar uyarılmış atomlardan oluşan ışığın absorplanmasını sağlar, Sonuçta absorpsiyonun meydana geldiği orta kısmın minimum olduğu bir bant oluşur.

Düzeltilmiş absorbansı ölçmek için lamba birkaç milisaniye 300 µ saniye yüksek akım uygulanır. Toplam absorbans düşük akım uygulandığında ise zemin absorpsiyonu ölçülür. Elektronik aletler ile toplam zemin absorpsiyonu çıkartılır ve düzeltilmiş değer elde edilir [41].

Zeeman Etkisi İle Zemin Düzeltme: Bir atomik spektrum hattının kuvvetli bir manyetik alana maruz bırakıldığında birbirinden az farklı dalga boylarındaki bileşenlerine yarılması olayına "Zeeman etkisi" denilir. Bileşenlerin sayısı elemente bağlı olarak değişmektedir. Zeeman etkisi, normal Zeeman etkisi ve anormal Zeeman etkisi olmak üzere iki grupta toplanır.

Normal Zeeman etkisinde atomun yayılan veya absorplanan hattı bir manyetik alan etkisiyle üç bileşene yarılır. Merkez bileşen, π ,manyetik alana paralel polarizeve orijinal absorpsiyon hattı ile aynı dalga boyundadır. Diğer iki bileşen σ^{+}ve σ^{-}merkez bileşenin her iki tarafında eşit dalga boyunda uzaklıkta ve manyetik alana dik düzlemde polarizedir. Kaymanın derecesi uygulanan manyetik alanın kuvvetine bağlıdır. Bu üç bileşenin şiddetinin toplamı daima orijinal şiddete (etkilenmemiş hat)eşittir. Normal Zeeman etkiye göre spektral hatların üç bileşene yarılması sadece singlet hatı atomlarda (s=0olanterimler) gerçekleşir. Singlet hatlar toprak alkali metallerin (Be,Mg,Ca,Sr,Ba) ve çinko grubu metallerin (Zn,Cd,Hg) esas rezonans hatlarıdır.

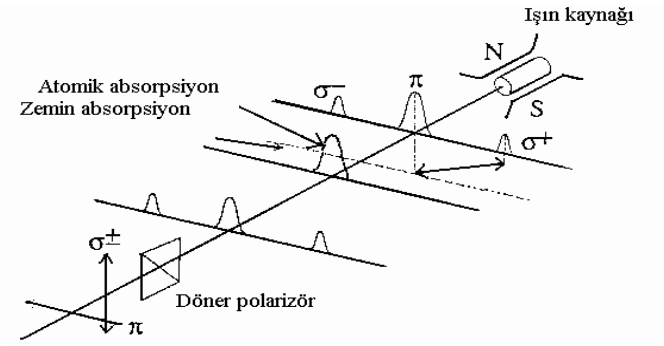
Anormal Zeeman etkisinde ise bileşen sayısı üçten fazladır yani π ve σ bileşenleri çok sayıda bileşene yarılır. σ bileşenlerinin dalga boyundaki kaymaları hem normal hem de anormal Zeeman etkisinde uygulanan manyetik alan ile orantılı olarak değişmektedir.



Şekil 3.13. Manyetik alanda spektral bir hattın normal Zeeman etkisi yarılması.[37]

Işın kaynağına yeterince güçlü bir manyetik alan uygulanırsa σ bileşenleri bir elektrotermal atomlaştırıcı veya alevli atomlaştırıcıda oluşmuş olan atomik buharların absorpsiyon profilinin dışına kaymaktadır. Böylece rezonans hattın oluşan π bileşenleri hematomik hemde atomik olmayan türler tarafından absorplanırken σ bileşenleri

sadece atomik olmayan türler tarafından azaltılmaktadır. Atomlaştırıcıdan sonra yer alan döner bir polarizör sırası ile π ve σ bileşenlerini monokromatörden geçirir. Π ve σ bileşenlerinin absorbanslarının birbirinden çıkarılması ile düzeltilmiş atomik absorpsiyon sinyalleri elde edilir.



Şekil 3.14Işın kaynağına manyetik alanın uygulandığı Zeeman AAS tekniği[37]

Bu tekniğin avantajları:

- Sadece bir ışın kaynağı kullanılır
- Sadece UV bölgesinde çalışan zemin düzeltici ışın kaynakları ile sınırlı değildir.

Dezavantajları ise:

- Sıradan atomik absorpsiyon spektrometrelerindeki gibi ışın kaynağından gelen başka hatlar olmamalıdır.
- Özellikle zemin değerinin büyük olduğu durumlarda zayıf düzeltme olacağından, zemin değeri doğrudan ölçülmez.
- Kuvvetli manyetik alanda oyuk katot lambasını çalıştırmak çok zordur.

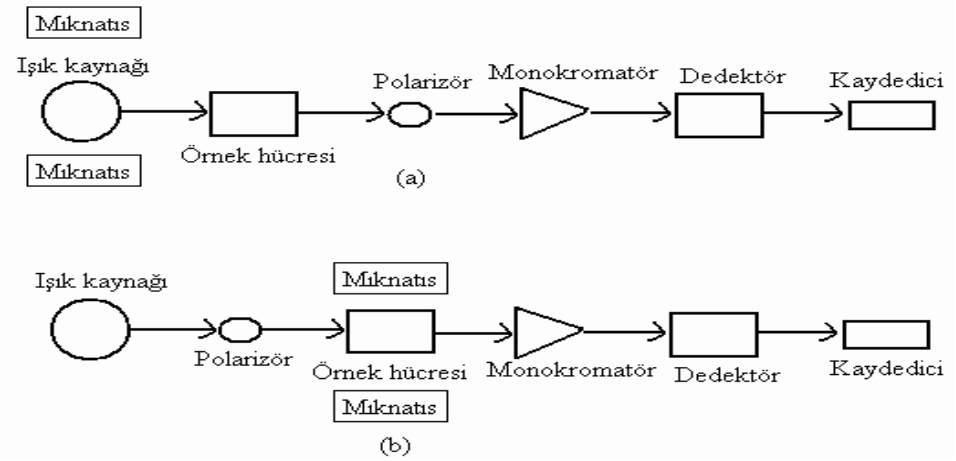
Bu nedenle özel ışın kaynaklarına ihtiyaç duyulur. Ticari aletler de bu yöntem pek sık kullanılmaz. Diğer bir Zeeman düzeltme yönteminde ise manyetik alan, ışın kaynağına dikey yönde elektrotermal atomlaştırıcı veya alev ile oluşturulmuş atomik buhara uygulanır. Atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri kaynaktan gelen rezonans ışığı absorplamayacak kadar kaydırılır. Uygun bir optik polarizörün kullanılması ile oyuk katot lambadan gelen ışın sırasıyla manyetik alana paralel veya dik düzlemde polarize olabilmektedir. Manyetik alana paralel polarize rezonans ışın absorpsiyon hatlarının π bileşeni tarafından absorplanır. Buna karşılık manyetik alana dikey polarize olmuş rezonans ışın atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri ile çalışmamaktadır ve σ bileşenlerinin absorpsiyonu söz konusu değildir. Absorpsiyon

ortamdaki atomik olmayan türler tarafından ışının saçılması ve moleküler absorpsiyon rezonans ışın kaynağının her iki polarizasyonu için eşit olacaktır. Düzeltilmiş atomik absorpsiyon sinyali her iki polarizasyon için ayrı ayrı absorbansların ölçülüp birbirinden çıkarılması ile elde edilir.

Diğer bir yöntemde ise atomlaştırıcıya kesikli olarak manyetik alan uygulanır. Fırın içindeki analiz elementine ani bir manyetik alan uygulanacak olursa atomik ve zemin absorpsiyonu ölçmek için primer rezonans hattın kullanılmasıyla ideal zemin değeri gözlenir.

Manyetik alan uygulanmadığı durumda ise atomik ve zemin absorpsiyonu birlikte ölçülmüş olur. Böylece atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri orijinal rezonans hattan kayma yapar ve polarizör ile π bileşenine engel olunur. Böylece sadece zemin absorpsiyonu ölçülür. İki okuma değeri arasındaki fark atomik absorpsiyona eşittir. Atomlaştırıcıya uygulanan Zeeman düzeltme yönteminde hem moleküler hem de atomik absorpsiyon aynı dalga boyunda ölçülür. Bu nedenle atomik absorpsiyon hattında moleküler absorpsiyonun ani değişimi nedeniyle diğer düzeltme yöntemlerinde ortaya çıkan hatalar bu yöntemde gözlenmez.[37]

Zeeman etkisinin ışın kaynağına veya atomlaştırıcıya uygulanışının şematik olarak gösterilişi;



Şekil 3.15. Zeeman etkili cihazların genel şematik gösterimi[37]

(a)Işın kaynağına manyetik alanın uygulanışı

b)Atomlaştırıcıya manyetik alanın uygulanışı

Smith Hieftje Zemin Düzeltme Yöntemi: Oyuk katot lambasına yüksek akım uygulandığında gaz iyonları ile uyarılan metal atomu sayısı artacağından lambanın

emisyon şiddeti de artar. Yüksek akım ve bunun neden olduğu yüksek sıcaklık, katot metalinin buharlaşmasına neden olur ve katot önünde temel seviyede atomların oluşmasına yol açar. Temel seviyedeki bu atomlar, çarpışmaların artmasıyla hat genişliklerinin artmasına, yani basınç genişlemesine neden olur.

Bu atomlar ayrıca, oyuk katot lambasının yaydığı ışımayı absorplayarak analiz elementinin absorplayacağı dalga boyundaki ışığın şiddetini de azaltırlar. Oyuk katot lambasının emisyon şiddetindeki bu azalmaya özabsorpsiyon(self absorpsiyon) adı verilir. Oyuk katot lambası düşük akımda çalıştırıldığında yaydığı ışıma, atomlaştırıcıda bulunan analiz elementinin atomları ve zemin girişimine neden olan moleküller ve diğer türler tarafından absorplanır. Daha sonra lamba çok kısa bir süre için ve periyodik olarak yüksek akımda çalıştırılırsa özabsorpsiyon nedeniyle, lambanın yaydığı ve analiz elementinin absorpsiyon yapabileceği dalga boyunun şiddetindeki azalma sonucu sadece zemin girişimine neden olan türler tarafından absorplanır. Böylece iki absorpsiyon sinyali arasındaki fark, analiz elementine ait atomların absorbansını verir.

3.9.2 Spektral olmayan girişimler

Spektral olmayan girişimler analiz elementinin sinyalini doğrudan etkiler. Atomik absorpsiyon spektrometresi numune absorbansı ile referans absorbansının karşılaştırılması prensibine dayalı bir metot olduğundan örnek içindeki analiz elementinin davranışının referansınkinden farklı olması girişim olduğunu gösterir. Girişimlerin sebebi kesinlikle belli değildir. Çözücüden gelen bir etki girişim olarak isimlendirilmez, çünkü örnekte ve referans çözeltide genel olarak aynı çözücü kullanılmaktadır. Ancak çözücülerin farklı olması durumunda çözücüden gelen bir girişimden söz edilebilir.

Bu tür girişimler çözücünün özelliklerine bağlı olarak;

- Fiziksel Girişimler,
- İyonlaşma Girişimleri ve
- Kimyasal Girişimler olarak sınıflandırılır [41].

Fiziksel Girişimler: Analizi yapılacak maddenin ve standardın viskozite, yüzey gerilim, yoğunluk, diffüzyon gibi fiziksel özelliklerinin farklı olmasından doğar. Farklı viskoziteli çözeltiler nebulizer içine kapiler yardımıyla farklı oranlarda emilir. Dolayısıyla, aynı analit konsantrasyonlu çözeltiler alevde farklı serbest atom konsantrasyonları verirler.

Kimyasal Girişimler: Atomlaştırıcıda oluşan kimyasal tepkimelerin sonucudur. Özellikle alevli atomlaştırıcılarda analizi yapılacak elementin, oksijen ile tepkimeye girerek kararlı bileşikler oluşturması, atom derişiminin azalmasına dolayısıyla absorbans değerinin gerekenden daha küçük okunmasına neden olur. Bunu önlemek için ortama girişime neden olan madde ile daha kararlı bir bileşik yapan bir madde eklenir [42].

Kimyasal girişimler, bir bileşikteki analit, atomlaşma sıcaklığında alevde bozunmadığı zaman meydana gelir. Dolayısıyla bu serbest analit atomları daha düşük konsantrasyon sonuçları alınmasına neden olacaktır.

Kimyasal girişimler için güzel bir örnek kalsiyumun analizi sırasında fosfat iyonlarının girişimidir. Kalsiyum ve fosfat iyonları alevde kalsiyum fosfat formunda buharlaşır. Bu bileşik, ısıyla hava-asetilen alevinin sıcaklığında nispeten kararlı olan kalsiyum pirofosfata dönüşür. Bu kimyasal reaksiyon alevde serbest kalsiyum atomlarının azalmasına neden olur. Kararlı oksitler de atomlaştırıcı sıcaklığında bozunmayan bileşiklerdir. Alüminyum ve demir düşük sıcaklıktaki alevde kararlı Al_2O_3 ve Fe_2O_3 türü oksitler oluştururlar. Oksit oluşumu, havadaki oksijen miktarının azaltılması ile önlenebilir. Örneğin, hava-asetilen alevi yerine N_2O-asetilen alevi kullanılarak ortamdaki oksijen konsantrasyonu azaltılabilir.

Kimyasal girişimleri gidermenin bir başka yolu da spektroskopik tampon maddeler kullanmaktır. Spektroskopik tampon, girişime neden olan bileşenlerden birisi ile tepkimeye girerek kararlı bileşiklerin oluşmasını önler. Fosfat varlığında kalsiyum analizi yaparken, ortama lantan tuzu eklenir. Böylece lantan iyonu fosfat ile tepkimeye girerek fosfat girişimini engellemiş olur.

Kimyasal girişimler alev veya grafit fırının sıcaklığını arttırarak veya kimyasal çevreyi değiştirerek yok edilebilir. Eğer bu önlemler herhangi bir nedenden dolayı uygulanamazsa kimyasal girişimler şu yöntemlerle yok edilebilir:

1- Standart çözeltilere engelleyici iyonlardan eklenir veya örnek ve standart matriksi birbirine benzetilir,
2- Girişim yapan anyon, örnek yapan çözeltiye aşırı miktarda eklenen başka bir katyonla bağlanır,
3- Tayin edilecek element kompleks oluşumu ile korunur [41].

İyonlaşma Girişimleri: Çok düşük iyonizasyon potansiyeli olan element atomları alevde iyonlaşabilir. Bu girişim ***buhar fazı*** olarakta bilinir.

Atomlaştırıcıdaki atomların önemli bir miktarının uygulanan sıcaklıkla iyonlaşması sonucu oluşur. İyonların spaktral hatları, atomların spektral hatları ile dalga boylarında olmadığından iyonlaşma, ölçülmesi gereken absorbanstan daha küçük değerlerin elde edilmesine neden olur [34].

İyonlaşma genellikle atomlaştırıcı sıcaklığının çok yüksek olduğu durumlarda gerçekleşir. Özellikle IA ve IIA grubu elementler, oldukça küçük iyonlaşma enerjilerine sahiptirler ve atomlaştırıcı sıcaklığında iyonlaşırlar. Atomlaştırıcı sıcaklığının düşürülmesiyle iyonlaşma bir ölçüde engellenebilir. Ancak atomlaştırıcı sıcaklığının düşürülmesi, birçok elementin tam olarak atomlaşmasını da engelleyebileceği için kesin çözüm değildir.

İyonlaşma girişiminin azaltılabilmesi için kullanılan diğer bir yöntem ise, standart ve numune çözeltilerine, iyonlaşma enerjisi küçük başka bir elementin eklenmesidir. Ortama kolay iyonlaşan lityum, sodyum veya potasyum eklenmesiyle, analizi yapılan metale ait, $Me \leftrightarrow Me^{+} + e^{-}$ dengesi, eklenen bu alkali metallerin iyonlaşması sonucu oluşan elektron fazlalığı nedeniyle sola kayar ve analizi yapılan metalin iyonlaşması önemli ölçüde engellenir [34].

3.10. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HGAAS)

Hidrür oluşturma yöntemi, numune çözeltisinden açığa çıkan hidrürün atomlaştırıcıya doğrudan gönderildiği doğrudan aktarma yöntemi ve hidrürün toplama

bölümünde tuzaklandığı ve daha sonra hepsinin birden atomlaştırıcıya gönderildiği biriktirme yöntemi olarak iki şekilde sınıflandırılabilir [53].

Doğrudan aktarma yöntemi;

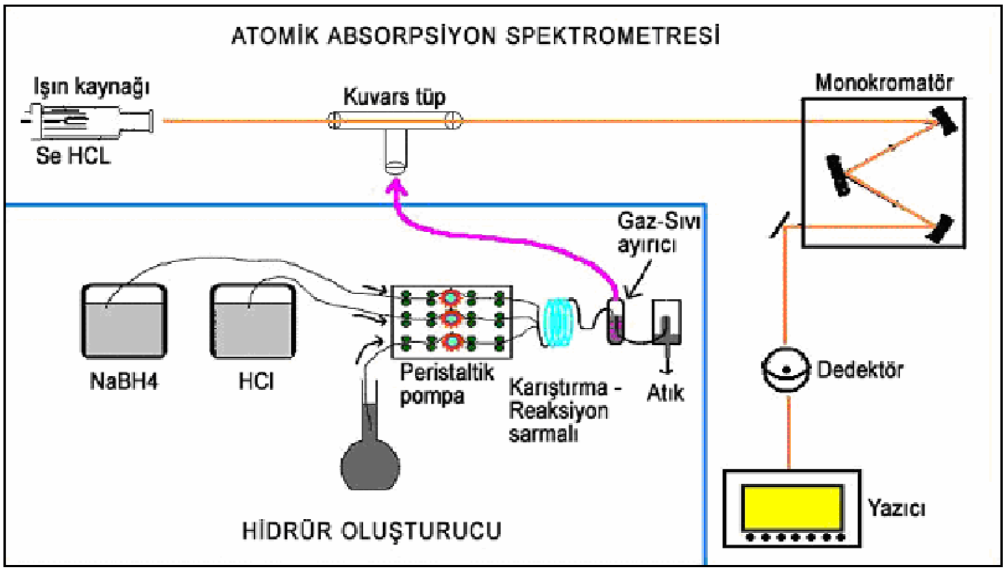
- Sürekli akış,
- Akışa enjeksiyon ve
- Kesikli sistemler olmak üzere üç şekilde uygulanabilir.

Sürekli akış sistemlerinde; sürekli akış hidrür oluşturma sistemleri 1973 yılında önerilmiş, kısa sürede hidrür oluşturma sisteminin en önemli parçası olmuştur [54].

Sabit hızla akan numune çözeltisi yine sabit hızla akan sodyum bor hidrür çözeltisi ve taşıyıcı gaz ile karıştırılır. Sıvı ve gaz ayrıldığında gaz fazında metal hidrür, hidrojen gazı ve taşıyıcı gaz bulunur. Bu gaz karışımı atomlaştırıcıya yönlendirilir. Sıvı ise atık kısmından pompa yardımıyla atılır.

Akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturma yönteminde; Akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturma sistemi ilk defa 1982 yılında Aström tarafından açıklanmıştır [55].

Sistem sürekli akış sistemine çok benzemekle birlikte numunenin sürekli olarak pompalanması yerine sabit akışta taşıyıcı asit çözeltisi enjekte edilir. Bilinen hacimde numune, taşıyıcı asit akışına enjekte edildiğinde, asit çözeltisi ile birlikte taşınarak sürekli akış sisteminde olduğu gibi sodyum bor hidrür ile karıştırılır.



Şekil 3.16 Hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometri

Çeşitli tipteki gaz-sıvı ayırıcılar sürekli ve akışa enjeksiyonlu sistemler ile kullanılmıştır.

Gaz-sıvı ayırıcıları genel olarak;

- Hidrostatik,
- Emmeli ve
- Membranlı olmak üzere üç sınıfa ayrılır.

Hidrostatik gaz-sıvı ayırıcılar basitliklerinden dolayı en sık kullanılanlardır. Çoğunlukla U seklinde olup, sıvı atık seviyesi atık borusu ile dengelenir. Sıvının fazlası atık borusundan akar.

Emmeli gaz-sıvı ayırıcılar genelde yüksek basınçlı ortamlarda daha iyi performans gösterirler. Fakat tepkimeye girmiş çözeltilerin atık yolundan pompa bağlanarak emilmesi gerekmektedir.

Membranlı gaz-sıvı ayırıcılar gazın mikro gözenekli yapıdaki membrandan geçmesi esasına dayanır. Çoğunlukla, sadece gaz geçirgen olan politetrafloroetilen (PTFE) veya silikon lastik borular kullanılır. Böylece sıvı, membran boru vasıtası ile atığa taşınırken argon ile taşınan hidrür membrandan geçerek atomlaştırıcıya taşınır. Burada membran, hem tepkime sarmalı hem de gaz-sıvı ayırıcısı görevi görmektedir.

Bu tip gaz-sıvı ayırıcısının önemli avantajı, diğer ayırıcılarda oluşan ve atomlaştırıcıya taşınan aerosolün oluşmamasıdır.

Kesikli tip hidrür sisteminin avantajı ise; Çok daha basit bir düzenekle kurulabilmesidir. Kesikli tip, gaz-sıvı ayrıcısına benzer plastik veya camdan yapılmış reaktörden oluşur. Asitlendirilmiş numune kesikli reaktörün alt kısmına konur ve indirgeyici reaktif pompa yardımı ile numune üzerine gönderilir. Taşıyıcı gaz, sıvı düzeyinin altına uygulanarak hidrürün tepkime karışımından süpürülmesi sağlanır. Hidrür oluşumu tamamlandıktan sonra tepkime karışımı atılır, reaktör temizlenir ve yeni numune ilave edilir. Akış sistemlerinde tekrarlanabilirliğin daha iyi olması ve ticari ürünlerin de akış sistemleri üzerine yoğunlaşmaları nedeniyle kesikli sistemlerinin kullanımı azalmıştır [56].

Hidrür oluşturma tekniğinin iki önemli avantajı vardır;

1) Tayin elementi numune ortamından ayrılır. Bu da olası girişimleri azaltır.
2) Gözlenebilme sınırı, μg/L veya daha düşük düzeylere getirilmiştir. Çünkü 1-50 ml numunedeki tayin elementinin tamamı bir kaç saniyede atomlaştırıcıya gaz olarak gönderilir [57].

Hidrürün Atomlaştırılması

Hidrür atomlaştırıcının, en az seyreltme ile numune bileşiminden bağımsız olarak yüksek verimle tayin elementinin hidrürünü serbest atomlarına dönüştürmesi, serbest atomları ışık yolunda uzun süre tutabilmesi ve yüksek duyarlılık sağlayabilmesi beklenmektedir [53].

Kuvars tüp atomlaştırıcılar genellikle atomik absorpsiyon spektrometrenin ışık yoluna yerleştirilmiş T-bağlantılı kuvars tüplerdir [58].

Kuvars Atomlaştırıcılar iki temel grupta incelenir.

1) Tüp içinde alevli atomlaştırıcılar: Dışarıdan ısıtılması gerekli değildir. Oluşturulan hidrür, hidrojen gazı ile süpürülerek atomlaştırıcıya taşınır. Diğer bir bağlantıdan oldukça düşük akış hızında oksijen gazı gönderilerek T bağlantısında kılcal borunun

ucunda hemen hemen gözle fark edilemeyecek küçüklükte bir hidrojen alevi oluşturulur.

2) Dışarıdan ısıtmalı tüpler: Işık yolundaki uzunluğu 10-15 cm, ortasından T bağlantısı ile hidrür girişi olan kuvars tüplerdir. Isıtma elektrikle, veya tüpün hava-asetilen, alevinin üzerine yerleştirilmesi ile olabilmektedir [59,60]. Elektrikle ısıtılan kuvars atomlaştırıcılar direnç teli ile sarılır ve dış yüzeyi sıcaklık kaybını azaltacak şekilde yalıtılır. Çoğu zaman aynı tasarımlar hem elektrikle hem alevde ısıtılarak kullanılabilmektedir.

Önemli dezavantajı ise; Kuvars yüzeyinin atomlaştırma sırasında neden oldugu girişimlerdir (spektral olmayan girişimler).

3.10.1. Doğrudan transfer hidrür oluşturma yöntemleri

Sürekli akış hidrür oluşturma sistemleri 1973 yılında önerilmiştir [54]. İlk akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturma sistemi ise 1982'de Aström tarafından açıklanmıştır. Akışa enjeksiyonlu ve sürekli akış hidrür oluşturma yöntemleri kullanım kolaylığı, otomasyona uygunluğu, duyarlılığı ile en uygun yöntemlerdir.

Akışa enjeksiyon yönteminin sürekli akış yöntemine göre dezavantajı ise duyarlılığın biraz daha düşük ve sistemin biraz daha karmaşık olmasıdır. Fakat akışa enjeksiyonlu sistemler örnek hacminin artırılması ile kolaylıkla sürekli akış sistemine dönüştürülebilir.

Baç tipi düzenekleri akış sistemlerinden ayıran en önemli fark, kullanılan kabın hem gaz-sıvı ayırıcı olarak hem de reaksiyonun gerçekleştiği yer olarak işlev görmesidir. Asit içerisinde hazırlanan analit genellikle cam bir kap içerisine konularak şırınga veya pompa yardımıyla gönderilen $NaBH_4$ çözeltisi ile karıştırılır ve taşıyıcı gaz ile atomlaştırıcıya gönderilir.

Akış sistemlerinin günümüzde oldukça popüler olmasından dolayı bu sistemler çok fazla kullanım alanı bulamamaktadır. Çok daha basit ve ucuz düzenekler olmaları ise akış sistemlerine karşı avantaj sağlamaktadır.

3.10.2. HGAAS yönteminde kullanılan atomlaştırıcılar

HGAAS kullanılmaya başlandığı ilk yıllarda oluşan hidrür, hava-asetilen alevine gönderilmekteydi. Özellikle kısa dalga boylarında alevin yüksek absorpsiyonu sonucu N_2-H_2, Ar-H_2 alevleri alternatif olarak kullanılmıştır.

Günümüzde HGAAS yönteminde 4 tip atomlaştırıcı kullanılmaktadır:

- İnert gaz- H_2 difüzyon alevi,
- Kuvars tüp atomlaştırıcılar,
- Grafit tüp atomlaştırıcılar ve
- Metal atomlaştırıcılar.

İnert gaz- H_2 difüzyon alevi: Hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometrinin geliştirildiği ilk yıllarda argon-hidrojen alevi yaygın olarak kullanılmıştır.[61] Oluşturulan hidrür, taşıyıcı gaz ile birlikte aleve aktarılmıştır. Sistem, alevli atomik absorpsiyon spektrometrinin standart alev başlığının dışında bir düzenek gerektirmemektedir. Bu alev tipinin hava-asetilen alevine kıyasla avantajı, düşük dalga boylarında çalışılan hidrür elementlerinde zemin sinyalinin çok daha az olmasıdır. Buna rağmen zemin düzeltme tekniklerinin kullanımı zorunludur. Alevin kararlılığını artırarak gürültüyü azaltmak amacıyla yalıtılmış alev kullanılmıştır. Difüzyon alevinin hidrür ile kullanımında önemli bir dezavantaj ise, hidrürün alev gazları ile önemli derecede seyrelmesidir. Bu nedenle günümüzde daha az zemin sinyali fakat daha yüksek duyarlılık sağlayacak atomlaştırıcılar tercih edilmektedir.

Kuvars tüp atomlaştırıcılar: Bu atomlaştırıcılar arasında en yaygın olarak kullanılan alev ile veya direnç teli ile ısıtılan kuvars T-tüp atomlaştırıcılardır. Bunlar, ışık yolundaki uzunluğu 10-15cm, ortasından T bağlantısı ile hidrür girişi olan kuvars tüplerdir. Isıtma elektrikle [62] veya tüpün hava-asetilen [60] alevinin üzerine yerleştirilmesi ile olabilmektedir. Bazı tasarımlarda ışık yoluna yerleştirilmiş atomlaştırıcı tüpün iki ucu kolaylıkla çıkarılıp takılabilen kuvars pencerelerle kapatılmıştır.

Atomlaştırıcının ısıtılmasında alev kullanıldığında kuvars pencereler grafit conta yardımı ile sabitlenmektedir. Kuvars pencereler ve grafit conta, tüpün iç kısımlarına yayılan hidrojen gazının yanmasını önleyerek özellikle As ve Se için gürültü oluşmasını engellemektedir. Elektrikle ısıtılan kuvars atomlaştırıcılar direnç teli ile sarılır ve dış yüzeyi sıcaklık kaybını azaltacak şekilde yalıtılır. Çoğu zaman aynı kuvars tüp tasarımları hem elektrikle hem alevde ısıtılarak kullanılabilmektedir.

Kuvars tüplerin sıcaklıkları kuvarsın termal dayanıklılığına, elektrikle ısıtılanlarda ise ısıtıcı aparata bağlıdır. Maksimum duyarlılıklar grafit fırınla ulaşılabilen sıcaklıklardan daha düşük sıcaklıklarda elde edilir.

Kuvars tüp atomlaştırıcıların bir türevi olan tüp içinde alevli atomlaştırıcılar da uygulanan sürekli hidrojen akışı dışarıdan ısıtmalı sistemlerde gerekli değildir. Fakat verimli atomlaştırmanın sağlanması için hidrojen gazının gerekli olduğu bilinmektedir. Dışarıdan ısıtmalı atomlaştırıcılarda tetrahidroborat ile asit çözeltisinin reaksiyonunda açığa çıkan hidrojen gazı yeterli olmaktadır.

Günümüzde kuvars tüpler en sık kullanılan atomlaştırıcılardır ve alevli atomlaştırıcılara kıyasla daha yüksek duyarlılık sağlamaktadır. Önemli dezavantajları ise kuvars yüzeyinin atomlaştırma sırasında neden olduğu girişimlerdir. Akışa enjeksiyon yönteminde ortamda bulunan radikallerin yetersizliği karşılaşılan girişimlerdeki esas problem değildir. Esas mekanizma girişim yapan türlerin kuvars yüzeyde birikmesi sonucu yüzeyin değişikliğe uğrayarak analitin bozunmasına neden olmasıdır.

Grafit tüp atomlaştırıcılar: Grafit tüp atomlaştırıcılar ilk kez L'vov tarafından kullanılmıştır. Bu atomlaştırıcı 2900^{o}C'ye kadar ısıtılabilmektedir ve 2-4^{o}C/ms ısınma hızına sahiptir.

Atomların ışık yolunda kalış süresi daha uzun olduğu ve atomlaştırıcı hacmi küçük olduğu için alevli AAS'ye göre daha duyarlı bir tekniktir. Matriksten kaynaklanan girişimler bu yöntem için en önemli dezavantajdır. Matriks değiştiriciler kullanılarak bu girişimlerin önüne geçilebilmektedir [40].

Grafit tüp atomlaştırıcılar elektrotermal buharlaştırıcı (ETV) olarak ICP-MS, ICP-OES gibi yöntemlerde numune aktarma aracı olarak ve HGAAS'de yerinde ön zenginleştirme için de sıklıkla kullanılmaktadırlar. Grafit tüp atomlaştırıcılar hidrür

oluşturmalı AAS tekniğinin kullanılmaya başladığı ilk zamanlardan itibaren atomlaştırıcı olarak kullanılmaktadır. İlk uygulama Knudson ve Christian tarafından 1973'de rapor edilmiştir.

Grafit fırın atomlaştırıcı olarak kullanıldığında;

- Hidrürün grafit tüp içinde tuzaklanması veya
- On-line atomizasyonu olarak iki tür kullanımı mevcuttur.

Online atomlaştırma, oluşturulan hidrürün önceden atomlaştırma sıcaklığına ısıtılmış grafit tüpe doğrudan transferi ile gerçekleştirilir. Sürekli akış hidrür oluşturma, [53] baç tipi kullanılmıştır. Oluşturulan hidrür genellikle grafit fırınların iç gaz hattı vasıtasıyla atomlaştırıcıya gönderilmektedir. Düzenek oldukça basit olmasına rağmen hidrürün soğuk metal veya grafit yüzeylerinde tuzaklanması gibi problemler ile karşılaşılmıştır. Alternatif olarak grafit tüpün numune girişinden kuvars veya boronitrit tüp bağlantısı kullanılmıştır. Grafit fırın on-line atomlaştırıcı olarak kullanıldığında duyarlılığı kuvars tüp atomlaştırıcılar ile kıyaslanabilir düzeydedir. Hidrürün doğrudan sıcak grafit atomlaştırıcıya transferi sonucunda hidrojen alevi oluşması ve 2000^{o}C' nin üzerindeki sıcaklıklarda karbon ile reaksiyona girerek asetilen oluşturması zemin sinyaline ve grafit tüpün ömrünün kısalmasına neden olmaktadır.

Metal atomlaştırıcılar: İdeal bir elektrotermal atomlaştırıcı materyalinin erime noktasının ve saflığının yüksek olması, yüksek ısınma hızı, stabilitesi, yüksek sıcaklıklarda inert olması gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir. Grafit bu özellikleri ile elektrotermal atomlaştırıcılara iyi bir örnektir. Buna karşın pahalı olması, soğutma sisteminin gerekliliği ve yüksek sıcaklıklarda karbür oluşumu gibi sınırlamaları da mevcuttur; bu da tungsten, molibden, platin gibi çeşitli metal atomlaştırıcıların geliştirilmesine neden olmuştur. Bu atomlaştırıcılar arasında tungstenden yapılan atomlaştırıcılar önceliği almıştır.

Tungstenin yüksek erime noktası (3420^{o}C), [63] sülfirik asit, hidroklorik asit, nitrik asit gibi birçok aside karşı dayanıklılığı ve ucuz olması AAS yöntemlerinde grafit atomlaştırıcılara alternatif olmasını sağlamıştır. Oksitlenmeyi önlemek için kullanılan Ar+H_2 gaz karışımı aynı zamanda soğutma işlemi için de yeterli olmakta dolayısıyla grafit fırında soğutma için kullanılan su sistemine gerek kalmamaktadır

.[64] Yine basit bir güç kaynağı bu metal atomlaştırıcının çalışması için yeterlidir bu da taşınabilir cihazlarla kullanılabilmesini sağlamaktadır.

Analitin karbür bileşikleri oluşturmasının söz konusu olmaması yanında, zemin sinyali de grafite nazaran UV bölgede daha azdır ve grafit tüp atomlaştırıcılara göre 10 kat yüksek ısınma hızına sahiptir. Çeşitli şekillerde olan tungsten atomlaştırıcılar arasında sarmal ve tüp şekilleri uygulamada yer edinmişlerdir. Tungsten atomlaştırıcıların yapısında safsızlık olarak bulunan Mo ve W hariç grafit tüp atomlaştırıcılı ETAAS'de tayin edilen tüm elementlerin tayin edilmesi mümkündür.[65]

3.10.3 Hidrürün atomlaşma mekanizması

Hidrürün atomlaşma mekanizması iki şekilde olur. Bunlar;

- Hidrürün termal parçalanması ve
- Radikal oluşumudur.

Kuvars tüp atomlaştırıcılarda sıcaklık $1300^{o}C$'yi geçmemektedir. Bu sıcaklık hidrür oluşturan elementlerin ETAAS ile tayinlerinde anılan elementleri atomlaştırmak için yeterli değildir. Dedina selenyum hidrür ile bu mekanizmayı aydınlatmaya çalışmışlar ve gerçekleşen atomlaşma mekanizmasında serbest hidrojen radikallerinin etkin olduğunu ve bu mekanizmanın tüp içinde alevli atomlaştırıcılar ve dışarıdan ısıtmalı kuvars tüp atomlaştırıcılar için aynı olduğunu öne sürmüşler ve sadece radikal oluşum mekanizmasının farklı olduğunu bildirmişlerdir [53].

Ayrıca O_2 miktarı azaldıkça atomlaştırıcı sıcaklığının etkisinin önem kazandığı yapılan çalışmada gösterilmiştir. Grafit tüpün hidrürün on-line atomlaştırılması için kullanıldığı durumlarda atomlaşma mekanizması atomlaştırıcı sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. $1200^{0}C$'den düşük sıcaklıklarda mekanizma kuvars tüp atomlaştırıcılara benzerken, termal yolla atomlaşma mekanizması $1600^{0}C$'nin üstündeki sıcaklıklarda radikal oluşumundan bağımsız olarak gerçekleşmektedir [53].

3.10.4 Hidrür oluşturmalı AAS yönteminde girişimler

AAS yöntemlerinde girişimlerin sınıflandırılması spektral ve spektral olmayan girişimler şeklinde yapılır.

Spektral girişimler analit haricindeki türlerin ışığı absorplaması veya ışığın

saçılması sonucu gerçekleşmektedir.

Spektral olmayan girişimler ise matriks bileşenlerinin analit sinyalini etkilemesiyle gerçekleşir.

Analitin matriksten ayrılması sonucu HGAAS yönteminde spektral girişimlere çok az rastlanırken çizgi girişimleriyle hiç karşılaşılmaz. Analit dışındaki diğer türlerin belli miktarda atomlaştırıcıya taşınması moleküler absorpsiyona ve zemin sinyaline neden olabilmektedir. Bu durum genellikle diğer hidrür oluşturan elementlerin atomlaştırıcıya taşınmasıyla gözlenmektedir [53].

Sıvı faz girişimleri, hidrürün sıvı fazdan salım hızının ve/veya hidrürün salım verimliliğinin azalmasına bağlıdır. Gaz faz girişimleri ise genellikle analit haricindeki hidrür oluşturan elementlerden kaynaklanmaktadır. Bu girişimler yüzeyde veya gaz-sıvı ayırıcısının ölü hacminde gerçekleşmektedir. Gaz faz girişimleri 2'ye ayrılmaktadır;

- Hidrürün atomlaştırıcıya taşınması sırasında analit hidrürün kaybı ve
- Atomlaştırıcıda gerçekleşen girişimler.

Bu tip girişimler atomlaştırma verimliliğini azaltabilirler ya da atomlaşmanın gecikmesine neden olabilirler.

Spektral olmayan girişimler matriste bulunan diğer türlerin analite göre yüksek miktarlarda bulunmasından kaynaklanmaktadır. Yapılan birçok çalışmada girişimin büyüklüğünün sadece girişim yapan türün derişimine bağlı olduğu analit derişiminden bağımsız olduğu belirtilmiştir.

Girişim yapan türlerin bulunduğu ortamlarda çizilen kalibrasyonların doğrusallık göstermesi de girişimlerin analit derişiminden bağımsız olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca genellikle düşünülen, girişimlerin interferent/analit oranına bağlı olduğudur ki bu şekilde bir davranış çok olası değildir, çünkü analit miktarına oranla oldukça yüksek miktarda interferent bulunmaktadır. Başka bir varsayım ise, girişimlerin büyüklüğünün analit derişimine bağlı olduğudur. [66] Ancak standart ilave yöntemleri ile girişimlerin azaltılmasının mümkün olması nedeniyle girişim etkisinin analit miktarından bağımsız olması sonucu çıkartılabilir. Standart katma yönteminin ancak girişim yapan tür veya türlerin analitik sinyali çok fazla etkilemediği durumlarda kullanılması söz konusudur.

Diğer bir yöntem ise numuneyi seyreltmektir. Bu yöntem yüksek analit

derişimine sahip numunelerde veya ölçüm yerinde tuzaklama yöntemleriyle uygulanabilir.

Sıvı faz girişimleri: Sıvı faz girişimleri analitin kimyasal formuna bağlı ve matriks kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılır.

Analitin kimyasal formu nedeniyle gerçekleşen girişimler, numunede ve standart çözeltilerde bulunan analitin farklı formlarda olması sonucu hidrür salım kinetiğinin farklılık göstermesinden kaynaklanır ve standart ilave yöntemiyle düzeltilemez.

Matriks girişimleri, matriks bileşenlerinin hidrür salım verimliliğini etkilediği durumlarda gözlenir. Analitin hidrür oluşumunun engellenmesi veya çözeltide oluşan hidrürün salımı gibi nedenlerden kaynaklanır. Standart ilave yöntemiyle bu tip girişimler düzeltilebilir.

Sıvı faz girişimlerinde sıkça karşılaşılan ve en önemli olan geçiş ve soy metallerin yapmış olduğu girişimlerdir.

Gaz faz girişimleri: Gaz faz girişimleri hidrürün taşınması esnasında gerçekleşebileceği gibi atomlaştırıcıda da gerçekleşebilmektedir. Atomlaştırıcıda gerçekleşen girişimlerin büyüklüğü, kullanılan atomlaştırıcıya bağlı olmanın yanında atomlaşma mekanizmasına da bağlıdır. Atomlaştırıcı olarak tüp içinde alevli atomlaştırıcı veya dışarıdan ısıtmalı kuvars tüp kullanıldığı durumlarda atomlaşma mekanizması benzerlik göstermektedir ve atomlaşma hidrojen radikallerine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Girişim yapan tür, ya hidrojen radikallerini tüketerek ortamda analitin atomlaşması için yeterli miktarda hidrojen radikali kalmamasına ya da analitin bozunmasına neden olarak atomlaştırıcıdaki serbest atom miktarını azaltarak ışık yolunda daha az miktarda serbest atom kalmasına sebep olacak ve analitik sinyali azalacaktır. Hangi durumda olursa olsun karşılaşılan girişimin boyutu daha küçük atomlaştırıcılarda daha az olmalıdır. Dedina ve Tsalev [53] As ve Sb varlığında sıcaklık, hidrojen akış hızı ve oksijen miktarı gibi parametrelerin Se'nin atomlaşmasındaki etkilerini incelemişler ve elde edilen sonuçların dışarıdan ısıtmalı kuvars tüp atomlaştırıcı için de geçerli olduğunu belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmada atomlaştırıcıda gerçekleşen girişimlerin radikal popülasyonuna mı yoksa analit atomlarının bozunmasına mı bağlı olduğunun ayrımını yapmışlar ve girişimlerin analitin bozunmasına bağlı olduğunu vurgulamışlardır.

Yapılan çalışmalarda Sb tayininde atomlaştırma sıcaklığını 1600-2000^{o}C arasında kullandıklarında Se, Bi ve As girişimlerinde belirgin bir azalma gözlemişlerdir.

Bu yöntemde hidrür oluşturan diğer elementlerin girişimleri için;

- Tuzak verimliliğinin azalması,
- Atomlaşma verimliliğinin azalması olmak üzere iki mekanizma önerilmektedir.

Girişimde interferent derişimi yerine grafit atomlaştırıcıda tuzaklanan toplam kütlenin etkin olduğu öngörülmüştür. Bu varsayıma karşıt olarak ve grubu As tayininde Ag Ge, Pb, Sn, Bi, Se elementlerinin herhangi bir girişim etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Girişimler ile ilgili bu iki karşıt görüşün sebebi uygulanan tuzaklama sistemiyle ilgili olabilir ki her iki yöntemde de Pd kaplamış grafit tüp atomlaştırıcı kullanılmıştır.

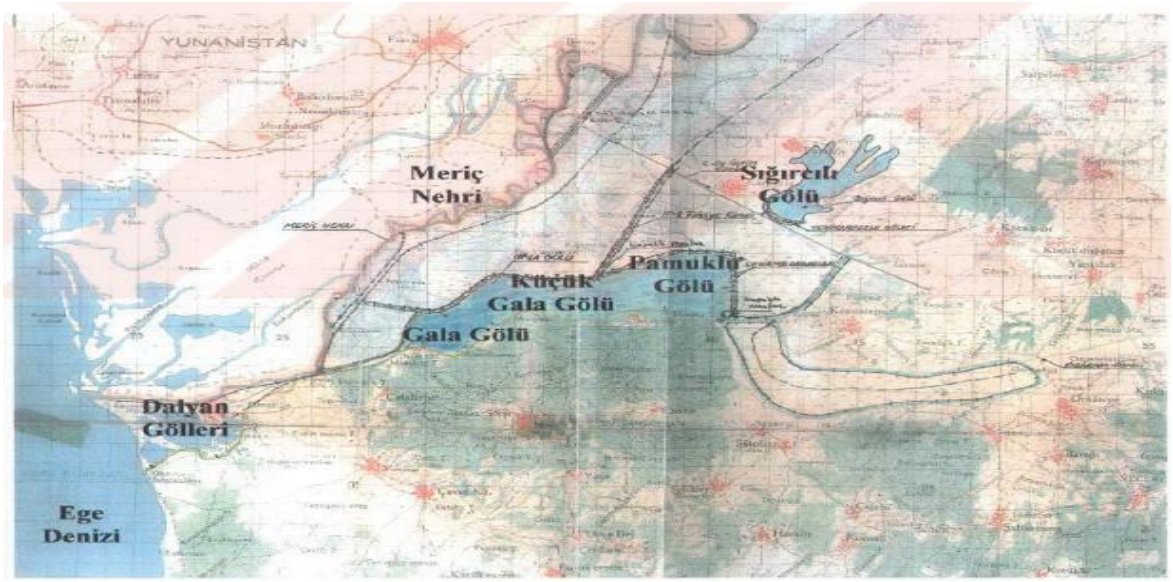
BÖLÜM 4

MATERYAL VE METOT

4.1. Gala Gölü ve Çevresindeki Alanın Genel Özellikleri

Meriç ırmağının, Ege Denizine döküldüğü yerde bulunan ‘‘Meriç Deltası Sulak Alanı’’, Türkiye ve Yunanistan toprakları içinde yer alan ve ‘‘Uluslararası Önemi Olan’’ ‘‘A Sınıfı’’ bir sulak alandır.

Gala Gölü ve çevresindeki Sulak Alanlar; Meriç Nehrinin, Ege Denizine döküldüğü, Edirne İli İpsala ve Enez ilçeleri sınırları içerisinde bulunan ve Türkiye’deki bölümü yaklaşık 35 000 ha olan Meriç Deltasının 3600 ha’lık bölümünü kapsamaktadır [67]. Gala Gölü ve çevresindeki sulak alanlar, Enez ili, Enez ilçesinin 10 km kuzeydoğusunda Meriç Deltasında bulunan alüvyon set gölü olup, 3 600 ha büyüklüğündedir. Alanın 1700 ha’lık kısmı sulak alan, geri kalan 600 ha’lık kısmını Hisarlı Dağı eteklerindeki ormanlık araziden oluşturmaktadır. Küçük Gala ve Pamuklu gölleri ile çevresindeki 2 369 ha’lık alan, 1991 yılında ‘ Tabiatı Koruma Alanı’ olarak ilan edilmiştir.



Şekil 4. 1. Gala gölünün haritada gösterimi

Gala gölünün ortalama derinliği 1,00 m, Pamuklu Gölünün ortalama derinliği 0,75m'dir. Göl kıyıları yer yer sazlık ve çeltik tarlalardan, yer yer de çayırlardan oluşmuştur. Gölün güney kısmını çam ağaçları ile kaplı Hisarlı Dağı oluşturmaktadır. Gölün Meriç Nehri taşkınlarından korunması için batı kısmına İpsala kış seddesi, 10 gözlü kapaklı menfez ve 1 adet kapaklı menfezden oluşan balık geçidi mevcuttur.

Gölün kuzeyinde, İpsala kış seddeleri ile IP-1 tahliye kanalı arasını oluşturan bölümünde Güney Cımra seddesi mevcuttur. Gala Gölünü beleyen başlıca su kaynakları, IP-1 tahliye kanalı, (Basamakları Deresi), Kızkapan Deresi (Mandıra Deresi), diğer küçük dereler ve göl yüzeyine düşen yağışlardır. Göl, çevresinde bulunan sulu tarım alanlarının, önemli düzeydeki drenaj suları ile de özellikle sulama mevsiminde beslenmektedir. Normal koşullarda gölden Meriç Nehrine su çıkışını 4 km' lik Gala ayağı sağlamaktadır. Taşyarma kanalı ile sular Taşaltı gölüne, Dalyan Gölüne ve oradan Ege Denizine aktarılmaktadır.[67]

Sulak alandaki göller: Büyük ve küçük Gala Gölleri, Sığırcı Gölü, 190 ha (Yeni karpuzlu depolamasına dönüştürülmüştür) ve Pamuklu Gölü, 188 ha ile Ege Denizi kıyısındaki Taşaltı, Bücürmene ve Dalyan Gölleridir, 550 ha.

Göller geniş bataklıklarla çevrilidir, yazın büyük bölümleri kurur ve tarım yapılır. Sığır Gölü çoraktır. Pamuklu ve Gala Göllerinin sularının nitelikleri mevsimlere göre değişir ve kışın tatlı, yazın tuzludur [67].

Alan Ramsar Sözleşmesi kriterlerine göre " Uluslararası Öneme Sahip Sulak Alan" olarak değerlendirilmektedir. Ancak henüz " Ramsar Alanı " ilan edilmiştir.[68]

Gala Gölü alanı genel olarak kara iklimin etkisi altındadır. Yazlar sıcak ve kurak, kışlar soğuk ve yağışlıdır. Batı ve kuzey bölümler tamamen açık olduğundan kuzey ve batıdan esen rüzgârların etkisi altındadır. İpsala'da ortalama sıcaklık 13,9 ^{o}C, en sıcak ay Temmuz, Ayı; ortalama 24,2 ^{o}C, en soğuk ay Ocak ayı; ortalama 3,8 ^{o}C' dir. Yıllık ortalama yağış 599,8 mm, en yağışlı aylar Kasım ve Aralık, en kurak aylar ise Temmuz ve Ağustos'tur.

Su kirliliği alanının ekolojik karakterinde değişimlere neden olmakta, özellikle tuzlanma artmaktadır. Göl çevresindeki suların yoğunlaşması sonucunda, kış aylarında

temiz su alan ve tuzluluğu azalan göl sularına, yaz aylarında özellikle Telmata ve Cımra ovalarından pompalanan ve göl hacmine göre çok yüksek olan drenaj sularının verilmesi kirliliğe ve tuzluluğun artmasına yol açmaktadır. Gölün 2002 ve 1984 Klorür değerleri karşılaştırıldığında 1984'te Ort. 425,49 mg/l olan değer; 2002 yılında 678,99 mg/l'ye (%37,33 artış) yükselmiştir [69] .

Dalyan, Gala, Pamuklu ve Sığırcı Gölleri çevresinde, profil teşekkülü olmayan azonal, hidromorfik alüvyal topraklar yaygındır ve tarıma elverişli değildirler. Bitki örtüsü kamış, saz ve tuzlu bataklık bitkileri olmak üzere sucul bitkilerdir. Bu topraklar yer yer bataklıklar durumundadır ve yanlızca çeltik tarımı yapılabilmektedir. pH'ları 7.5 dolayındadır ve çoğunlukla tuzludurlar.[70]

Meriç Deltası sulak alanı, haliçsel, denizsel, ırmaksal ve görsel sulak alan türlerin tümünü içermekte ve biyolojik çeşitlilik açısından, alandaki büyük kayıplara karşın, zengin olarak değerlendirilmektedir. Gala Gölünde yapılan çalışmalarda 55 cins bitkisel plankton, 31 cins hayvansal pilankton (zooplankton), 42 tür su bitkisi, çevredeki çoğu bozulmuş durumdaki orman alanları ile su basar orman alanlarında 15 tür ağaç, 19 farklı guruba ait dip canlısı ve 19 adet Chironomidae türü, eutrof karakterli bir göl olmasına karşı bentik organizmaların biyolojik çeşitlilik göstermesi, Gala Gölünün çevresindeki diğer sulak alanlarla yakın ilişki içinde olmasındandır. Gölde 19 adet balık türü, 3 adet kurbağa türü ayrıca 134 adet kuş türü bulunmaktadır [69] .

4.2. Numunelerin toplanması ve hazırlanması

4.2.1 Numunelerin toplanması

Bu çalışma ile daha önce, Kefal (*Liza ramada*) balığı üzerine arsenik içerikleri bakımından kapsamlı bir çalışma bulunmayan Gala Gölü'nün incelenmesi planlanmıştır.

Haziran ayında 11 adet balık numunesi örneği alındı. Alınan balık örneğinin bağırsak, solungaç, kas ve deri olmak üzere dört adet organı ayrılarak, ölçümleri alındıktan sonra polietilen kapların içerisine konularak asitlendirildi.

4.2.2 Numunelerin hazırlanması

Analizi yapılmadan önce uygun bir cetvel yardımıyla boy uzunluğu ve hassas bir terazi yardımıyla ağırlık ölçümleri yapıldı. Daha sonra belirlenen organlardan (bağırsak, solungaç, kas, deri) yaklaşık 1 g. alınıp mikrodalga çözünürleştirme işlemi için hazırlandı.

Mikrodalgada numunelerin çözünürleştirmeye hazırlanması için 1 g. polietilen kaba alınan balık organ doku numunelerin üzerine 6 ml HNO_3 (% 65'lik) ve 2 ml H_2O_2 asitleri ilave edildi ve deiyonize su ile 20 ml'ye seyreltildi.

4.2.3 Tez çalışmasında incelenen balık türü,

Liza ramada (Risso, 1827) (Kefal)

- Ekolojik Özellikleri

Kefal balıkları tropik ve ılıman bölgelerde az tuzlu ve tatlı sularda yaşayabilen türleridir. Bu balıklar ısı, oksijen, tuzluluk gibi ekolojik faktörlere çok toleranslıdır. Tuzluluğu % 60 tuzlu lagünler ile tatlı sularda yaşayabilmektedir. Sıcaklığı 3°C'den 35 °C'ye kadar değişen sulara uyum sağlarlar. Beslenmek üzere denizden sahile, nehire lagünlere göç ederler. Hayvansal ve bitkisel gıdalarla beslenirler. Besinlerini eklem bacaklı, kurt, yumuşakça, çürümekte olan organik maddeler ve bitkisel organizmalar oluşturur. Denizlere üreme göçü yapan (Katadrom) balıklardır.

- Biyolojisi

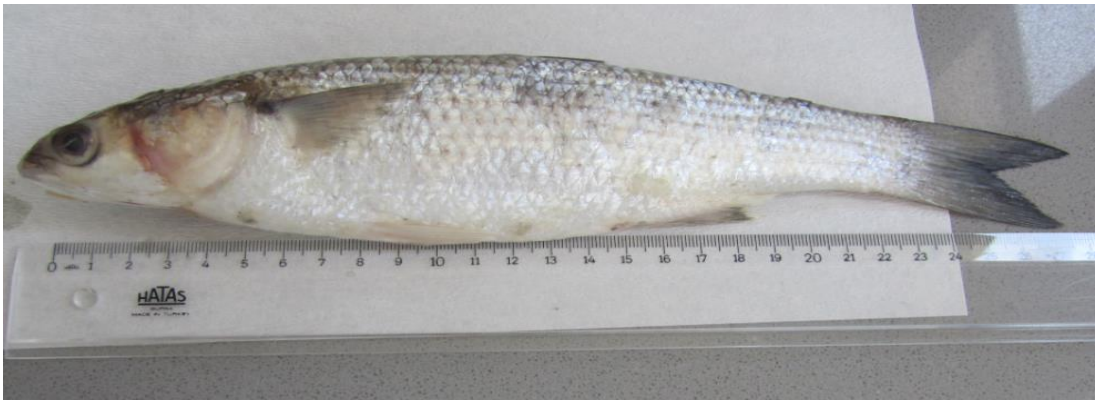
Kefal balığı türleri birbirlerine çok benzer. Vücutları genellikle torpil şeklinde ancak yanlardan hafif yassılaşmış olup parlak renkli pullarla örtülüdür. Ayrıca birçok vücut pulları sırttan yassılaşmış olan baş ve burun üzerinde de biraz daha küçük olmak üzere devam eder. Burun kısmı ve küt yapılıdır. Özellikle birinci sırt yüzgecinin alt kısmındaki pulları üzerinde bir veya birkaç belirgin kanal vardır. Yanal çizgileri bulunmaz. Sırtta 2 adet taşırlar. Göğüs yüzgeçleri vücudun biraz üst kısmına yakın konumda bulunur. Kuyruk yüzgeci çataldır. Bağırsakları uzundur ve mide etrafında sayıları türlere göre değişen ve plorik çekum denilen eldiven parmağı şeklinde özel yapılar bulunur. Bunların sayıları özellikle gençlik evresinde kefallerin tür ayrımında

ayırıcı özellik olarak kullanılır. Büyükçe hava kesesi vardır. Omur sayıları 24-26 arasındadır. Küçük olan ağız terminal konumludur. Bazı türlerde mikroskobik ince ve bir iki sıralı kıl şeklinde çene dişleri bulunur. Beslenme açısında omnivor özeliktedir. Crustecea mavi yeşil algler diatomlar basiller doğal besinleridir. Ömürleri 14-15 yıldır.

Sularımızda yaşayan kefal balıkları türlerini birbirinden ayıran noktalar ise, gözün etrafı ve göz merceğinin büyük bir kısmı yağ kapağı ile kaplı göğüs yüzgeci kaidesindeki üçgen pul iyi gelişmiş, başın üstten görünüşü vücuttan daha enli ise has kefal; üst dudak geniş, üzerinde bir sıralı ve dikey konumlu ince kıvrıntılar bulunuyorsa dudaklı kefal; başın ön kısmında bulunan pullar 2-8 kanallı ise mavraki; baş pulları başın ön kısmında burun deliklerinin hizasına kadar uzanıyor, göğüs yüzgecinin kaidesinde siyah bir leke bulunuyorsa plutarina; solungaç kapağı üzerinde sarı bir leke bulunuyorsa altınbaş kefali olarak adlandırılırlar.

- Üremesi

Kefal balıkları sahilden biraz uzakta 100-150 m derinliğe kadar olan deniz suyunda yumurta bırakırlar. Küresel ve saydam bir görünümde olan yumurtaların çapları 1mm civarındadır. Yumurtalar pelajik olup 4-5 gün içerisinde açılır. Kefal balıklarının cinsî olgunluğa erişmesi türlere göre farklılık gösterir. Küçük boylu kefal türlerinde (dudaklı kefal, mavraki) erkekler 3-4 dişiler 5-6 yaşlarında cinsî olgunluğa ulaşırlar. Daha büyük boylu olan kefal türlerinde (altınbaş kefali, has kefal) erkekler 6-7 dişiler 7-8 yaşlarında cinsî olgunluğa ulaşırlar. Yumurta verimi türlere göre farklı olmakla beraber her kg canlı ağırlık için 1-1,5 milyon arasında değişir.



Şekil 4. 2. Liza Ramada (Risso 1827) genel görünüşü

BÖLÜM 5

5.1. Numunelerin Hazırlanması

Numuneler Enez'de belirlenen yerel bir balıkçıdan balıkların tutulduğu gün alındı ve laboratuvara getirildi. Analizi yapılmadan önce uygun bir cetvel yardımıyla boy uzunluğu ve hassas bir terazi yardımıyla ağırlık ölçümleri yapıldı. Daha sonra belirlenen organlardan (bağırsak, solungaç, kas, deri) yaklaşık 1 gram alınıp mikrodalga çözünürleştirme işlemi için hazırlandı.

Liza ramada (Risso, 1827) (Kefal) balığı için ölçülen ortalama boy uzunluğu (11 tane) 24 cm olarak ölçüldü. ***Liza ramada*** (Kefal) balığı için ağırlık ölçümleri Tablo 6.1' de verilmektedir.

Tablo 5. 1. *Liza ramada* (Kefal) için ağırlık ölçümleri

Numune No	**Balık ağırlığı, g.**
1	148,18.
2	245,26
3	315,41
4	334,19
5	193,38
6	320,87
7	625,62
8	383,07
9	284,49
10	183,52
11	374,06

5.2. Numunelerin Çözünürleştirmesi

Balıkların çeşitli organlarından (bağırsak, solungaç, kas, deri) 1 g.'lık numunelerin üzerine 2 ml H_2O_2 ve 6 ml HNO_3 ilave edildi. Daha sonra mikrodalga tüplerine konularak çeşitli basamaklar uygulan çözünürleştirme işlemi yapıldı.

Örneklerin asitte parçalanıp analize hazırlanması için CEM MARSXpress 5 mikrodalga çözme sistemi kullanıldı. Mikrodalga fırın yüksek güçte mikrodalga enerjisi ile çeşitli örneklerin uygun asit karışımları içinde çözülmesini sağlayan ve özellikle AAS ve ICP analizleri için geliştirilmiş bir sistemdir. Cihazın software'i yakma programlarını hafızada tutabilecek, 10 basamağa kadar program yapmaya uygun şekilde hazırlanmıştır. Ayrıca bilgisayar kontrollü olarak da çalışabilmekte ve bir referans kabı içine yerleştirilen basınç ve sıcaklık probları yardımıyla örnek kabının iç ve dış sıcaklığı ile basıncın bir grafikle ekrandan takip edilmesine olanak vermektedir.

Mikrodalga ile parçalanmalarda işlem çok kısa (~20 dakika) sürdüğü için hız önemli bir avantajdır. Bunun yanısıra kapalı kap içinde ve yüksek basınçta çalışılabildiği için buharlaşma kayıpları önlenir ve bu nedenle az miktarda reaktifle çalışılabilir. Böylece reaktiflerden gelebilecek kirlenmeler en aza indirgenir.



Şekil 5. 1. Mikrodalga çözünürleştirme sistemi

Tablo 5. 2. Örneklerin çözünürleştirilmesinde kullanılan mikrodalga yakma programı

Basamak	Güç	Zaman (dk)
1	400W	2
2	400W	2
3	400W	6
4	800W	8

Tablo 5. 3. Yıkama metot parametreleri

Basamak	Güç	Zaman (dk)
1	400W	2
2	800W	5
3	1600W	5
4	800W	5

Tablo 5. 4. GFAAS'de çalışma koşulları ve metot geliştirme

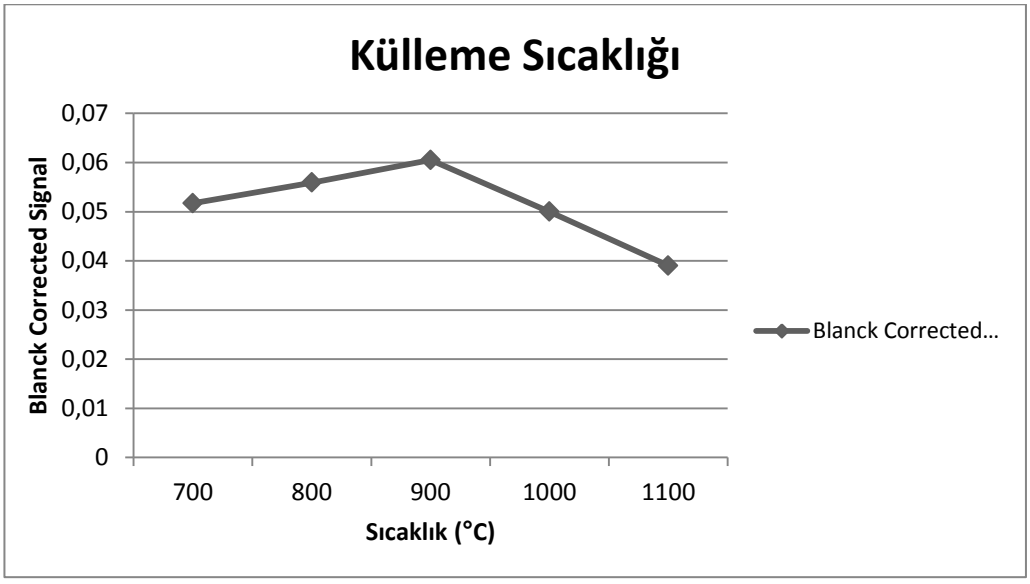
	As
Işık Kaynağı	EDL
Dalga Boyu	193.7nm
Slit Genişliği	0.7nm
Atomlaştırıcı	THGA
Enjeksiyon Hacmi	20µL
Zemin Düzeltmesi	Zeeman zemin düzeltme
Kimyasal Modifier	Pd/Mg

Tablo 5. 5. As örnekleri analizde uygulanan sıcaklık programı

Basamak	Sıcaklık (°C)	Ramp (s)	Hold (s)	Gaz Akışı (mL/dak)
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	900	10	20	250
4	2000	0	5	0
5	2450	1	3	250

Tablo 5. 6. Külleme sıcaklığı optimizasyonu

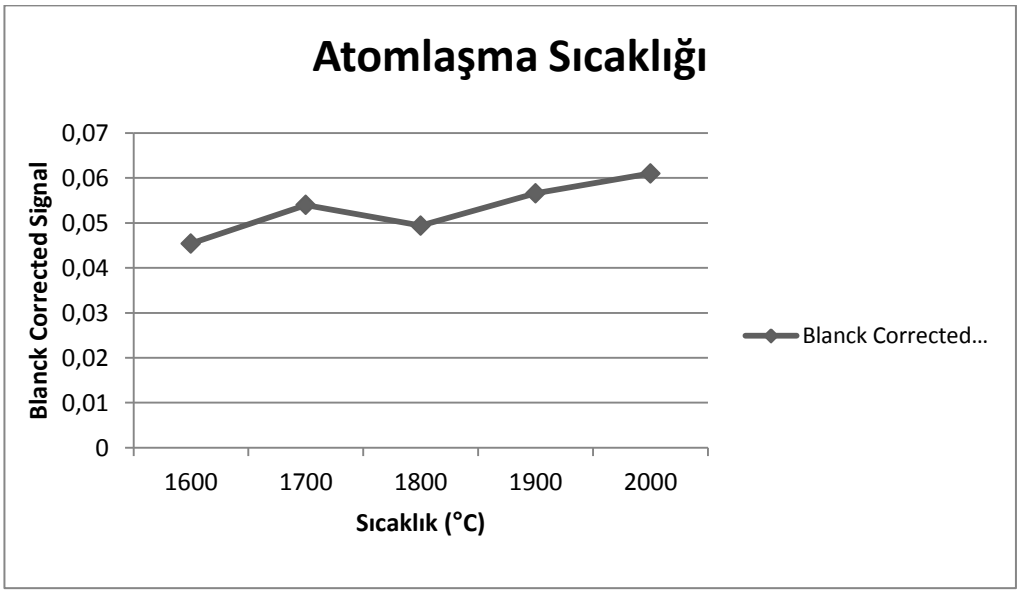
Sample ID	Step #	Temp. #1	Temp. #2	Blanck Corrected Signal	RSD (%)	Background Peak Height
Numune (700)	3	700		0.0517		0.8337
Numune (800)	3	800		0.0559		0.5621
Numune (900)	3	900		0.0605		0.3782
Numune (1000)	3	1000		0.0500		0.2829
Numune (1100)	3	1100		0.0390		0.3981



Şekil 5. 2. Külleme sıcaklığı optimizasyonu

Tablo 5. 7. Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu

Sample ID	Step #	Temp. #1	Temp. #2	Blanck Corrected Signal	RSD (%)	Background Peak Height
Numune (1600)	4	1600		0.0454		0.4230
Numune (1700)	4	1700		0.0540		0.2785
Numune (1800)	4	1800		0.0494		0.3854
Numune (1900)	4	1900		0.0566		0.3469
Numune (2000)	4	2000		0.0610		0.3158



Şekil 5. 3. Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu

5.3. GFAAS'de Yapılan Analiz Sonuçları

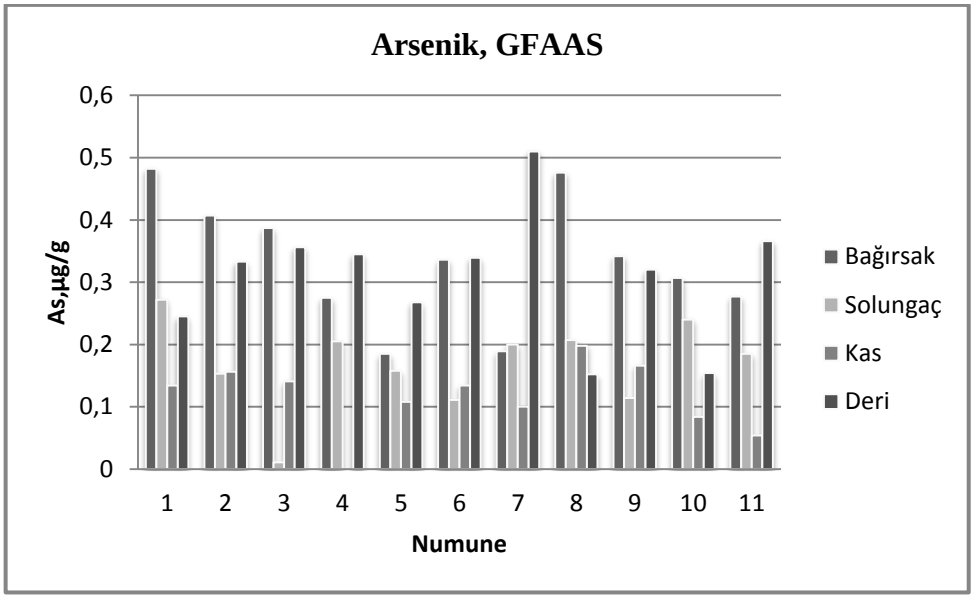
Bu çalışmada, balık organ numunelerinde HGAAS tekniğinin arsenik tayininde genel olarak kullanılan GFAAS ile kıyaslanması amaçlanmıştır.

GFAAS ile yapılan ilk çalışmada, mikrodalga yöntemiyle yüksek basınç ve yüksek sıcaklıkta örneklerin tamamen parçalanması sağlandığı için matriks etkisi büyük oranda yok edilmiştir. Fakat ölçümlerin doğruluk ve tekrarlanabilirliğini arttırmak amacıyla üretici firma tavsiyesi ve matriks düzenleyicilerle ilgili araştırmaları da göz önünde bulundurarak $Pd(NO_3)_2$ + $Mg(NO_3)_2$ karışımı matriks düzenleyici olarak kullanıldı. 1mL Pd+0,1mL Mg çözeltilerinden alınıp 10 mL'ye tamamlandı, hazırlanan bu matriks düzenleyiciden toplam 5 µL tüm standart ve örneklere ilave edildi.

GFAAS ile ölçümler sırasında absorbans okumaları her bir örnek çözeltisi için iki okuma şeklinde gerçekleştirilmiştir. Bütün ölçümlerin bağıl standart sapmaları (RSD) %8'in altındadır.

Tablo 5. 8. GFAAS yöntemiyle balık örneklerindeki As içeriklerinin organlara göre dağılımı

Arsenik, µg/g (GFAAS)				
Numune No	**Bağırsak**	**Solungaç**	**Kas**	**Deri**
1	0.482	0.272	0.134	0.245
2	0.407	0.153	0.156	0.333
3	0.387	0.011	0.141	0.356
4	0.275	0.205	0.000	0.345
5	0.185	0.158	0.108	0.268
6	0.336	0.111	0.134	0.339
7	0.189	0.200	0.100	0.510
8	0.476	0.207	0.198	0.152
9	0.342	0.114	0.166	0.320
10	0.307	0.240	0.084	0.154
11	0.277	0.185	0.054	0.366
Ortalama ± SS	0.333 ± 0.015	0.169 ± 0.012	0.116±.0.011	0.308±0.016



Şekil 5. 4. GFAAS yöntemiyle bulunan As içeriklerinin organlara göre dağılımı

5.4. HGAAS' de Yapılan Analiz Sonuçları

Hidrür oluşturmalı AAS tekniği ile analiz yapabilmek için bazı değişkenlerin en uygun değerlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu değişkenler; hidroklorik asit derişimi, sodyum bor hidrür derişimi ve taşıyıcı gaz akış hızıdır.

Hidroklorik asit (HCl), HGAAS sisteminde taşıyıcı çözelti olarak kullanılmaktadır. Çözelti halindeki numunenin tepkime tüpüne taşınmasını sağlar ve burada numune, hidroklorik asit ve sodyum bor hidrür ile karışarak bir tepkime meydana gelir. Sodyum bor hidrür ($NaBH_4$), hidrür oluşturucu bir maddedir. Burada $NaBH_4$, As(V)ile tepkimeye girerek As (III) oluşmasını sağlar.

HGAAS'de taşıyıcı gaz olarak ortamdaki diğer maddelerle tepkimeye girmeyen (inert) bir gaz kullanılmaktadır. Bunun için genellikle argon veya azot gazı tercih edilir. Bu çalışmada argon gazı kullanılmıştır. Argon gazı, tepkime tüpünde hidrürüne dönüştürülen As^{5+}'in atomlaştırıcıya iletilmesini sağlamaktadır.

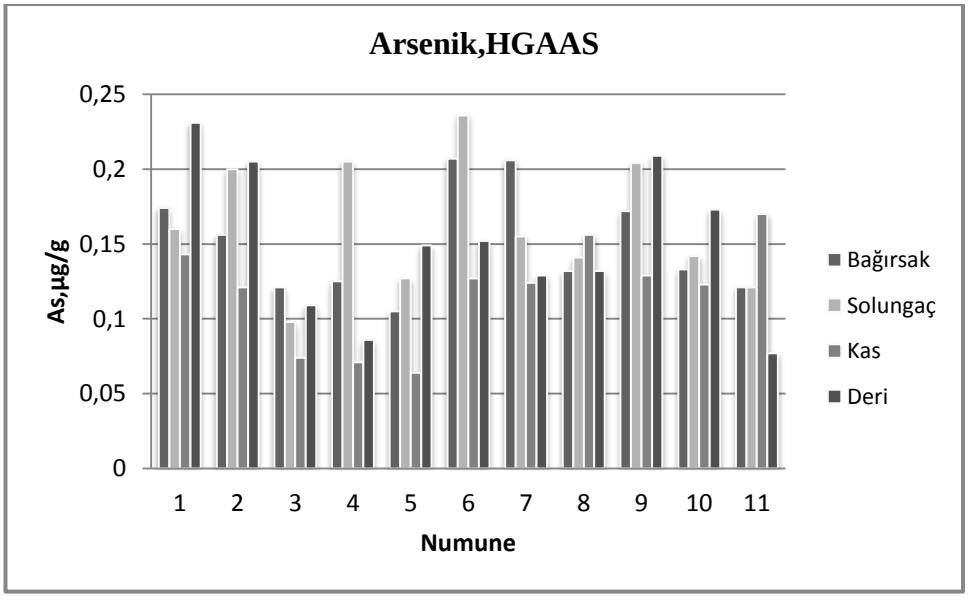
HGAAS'de çalışmalara başlarken yukarıda bahsedilen üç değişkenin belirlenmesi için deneyler yapıldı. Hangi değişken inceleniyorsa, o değişkenin değeri değiştirilerek diğer değişkenler sabit tutuldu.

İndirgen: 0,25 molar NaOH içerisinde hazırlanmış 0,8 molar $NaBH_4$**2,**5 g. NaOH ve 7,5 g. $NaBH_4$ tartılarak balon jojeye alındı ve deiyonize su ile 250 ml'ye tamamlandı.

Ön indirgeme: 1 ml numune çekilip üzerine 1 ml konsantre HCl ilave edilip su banyosu içerisinde yarım saat beklendi ve daha sonra üzerine deiyonize su ilave edilip 10 ml'ye tamamlandı.

Tablo 5. 9. HGAAS yöntemiyle balık örneklerindeki As içeriklerinin organlara göre dağılımı

Arsenik, µg/g (HGAAS)				
Numune No	**Bağırsak**	**Solungaç**	**Kas**	**Deri**
1	0.174	0.16	0.143	0.231
2	0.156	0.2	0.121	0.205
3	0.121	0.098	0.074	0.109
4	0.125	0.205	0.071	0.086
5	0.105	0.127	0.064	0.149
6	0.207	0.236	0.127	0.152
7	0.206	0.155	0.124	0.129
8	0.132	0.141	0.156	0.132
9	0.172	0.204	0.129	0.209
10	0.133	0.142	0.123	0.173
11	0.121	0.121	0.17	0.077
Ortalama ± SS	0.150 ± 0.03	0.163 ± 0.005	0.118 ± 0.03	0.150 ± 0.05



Şekil 5. 5. HGAAS yöntemiyle bulunan As içeriklerinin organlara göre dağılımı

5.5. Balık Numunelerinde As Derişiminin GFAAS ve HGAAS Sonuçları Açısından Karşılaştırılması

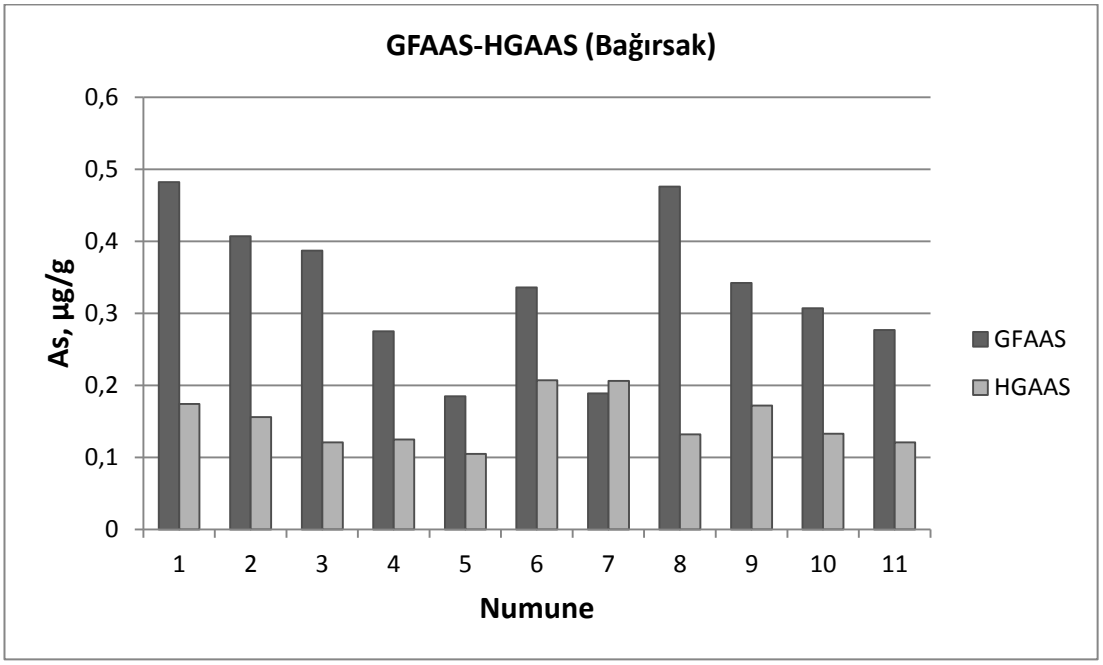
Yapılan analiz için geçerli olan en önemli parametre çözünürleştirmenin tam anlamıyla gerçekleştirilmesidir. Bundan dolayı balık numunelerinin analizinde mikrodalga çözünürleştirme ve GFAAS yöntemi çalışmamızın da temelini oluşturan yöntemdir.

Amacımız As açısından optimum koşulları belirlenen yöntemi balık numunelerine uyguladıktan sonra analiz süresi açısından daha kısa ve analiz elementinin uçucu hidrürü şeklinde atomlaştırıcaya matriksten ayrılarak ulaşması gibi önemli avantajları olan HGAAS yönteminin tercih edilebilirliğini incelemekti. Her organ için ayrı ayrı istatistiksel değerler hesaplanarak grafiğe döküldü.

Tablo 5. 10. Bağırsak için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g)

Numune No	GFAAS	HGAAS
1	0.482	0.174
2	0.407	0.156
3	0.387	0.121
4	0.275	0.125
5	0.185	0.105
6	0.336	0.207
7	0.189	0.206
8	0.476	0.132

9	0.342	0.172
10	0.307	0.133
11	0.277	0.121
Ortalama ± SS	0.333 ± 0.015	0.150 ± 0.03

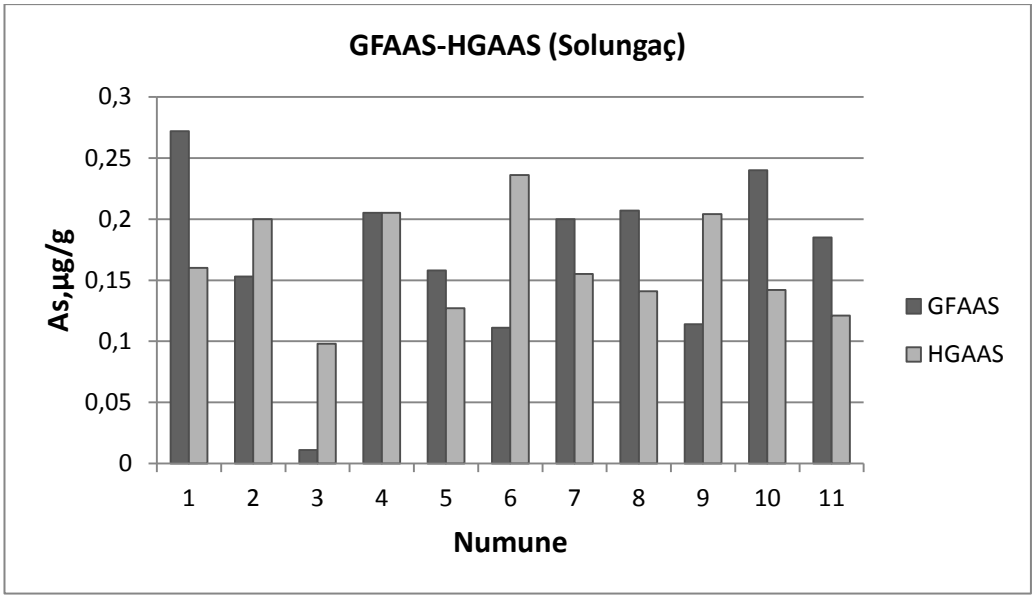


Şekil 5.3 Bağırsak için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 5. 11. Solungaç için iki yöntemin bulunan As içerikleri.(µg/g)

Numune No	GFAAS	HGAAS
1	0.272	0.16
2	0.153	0.2
3	0.011	0.098
4	0.205	0.205
5	0.158	0.127
6	0.111	0.236
7	0.200	0.155

8	0.207	0.141
9	0.114	0.204
10	0.240	0.142
11	0.185	0.121
Ortalama ± SS	0.169 ± 0.012	0.163 ± 0.005

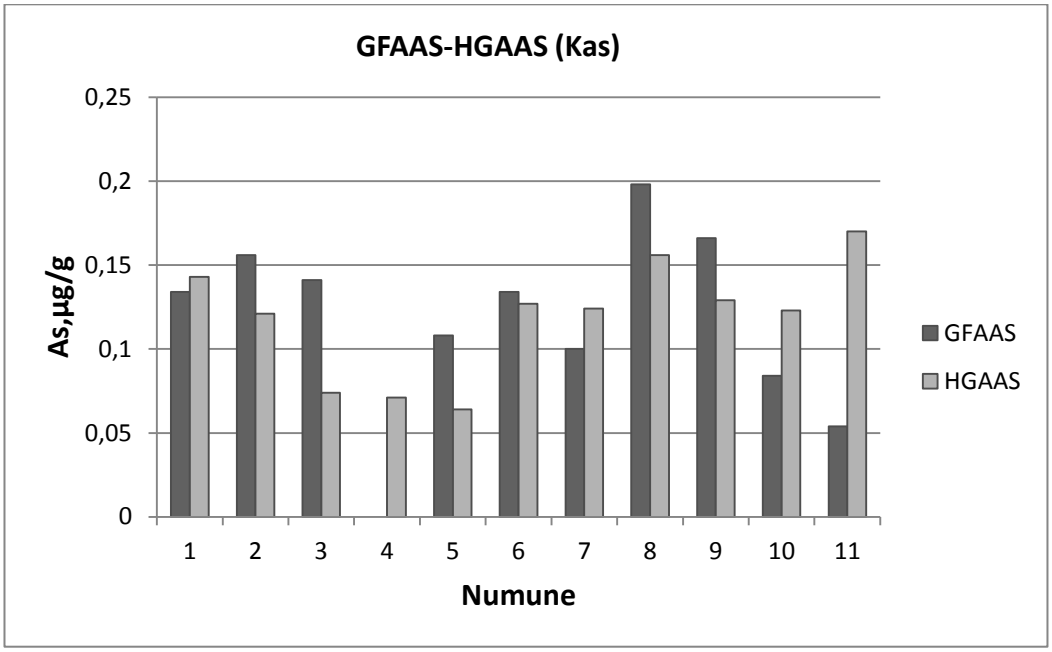


Şekil 5. 6. Solungaç için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 5. 12. Kas için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g)

Numune No	GFAAS	HGAAS
1	0.134	0.143
2	0.156	0.121
3	0.141	0.074
4	0.000	0.071
5	0.108	0.064
6	0.134	0.127

7	0.100	0.124
8	0.198	0.156
9	0.166	0.129
10	0.084	0.123
11	0.054	0.17
Ortalama ± SS	0.116±.0.011	0.118 ± 0.03

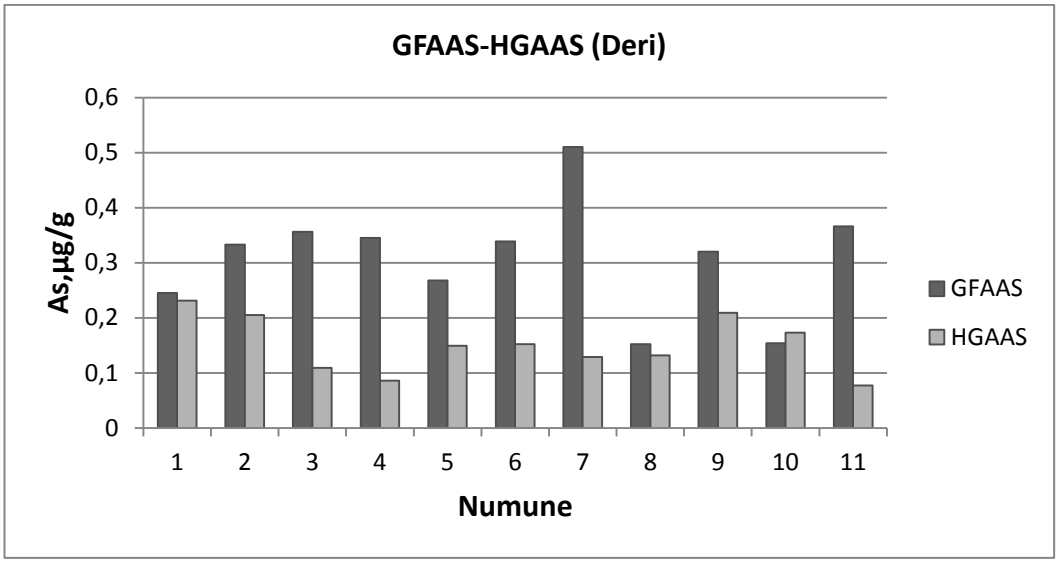


Şekil 5. 7. Kas için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 5. 13. Deri için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g)

Numune No	GFAAS	HGAAS
1	0.245	0.231
2	0.333	0.205
3	0.356	0.109
4	0.345	0.086
5	0.268	0.149
6	0.339	0.152
7	0.510	0.129
8	0.152	0.132
9	0.320	0.209

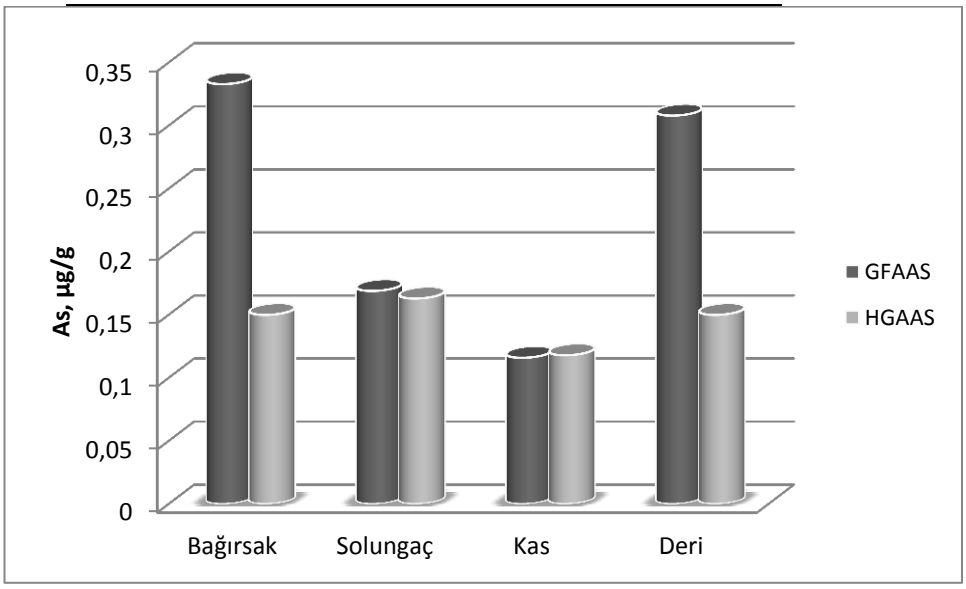
10	0.154	0.173
11	0.366	0.077
Ortalama ± SS	0.308±0.016	0.150 ± 0.05



Şekil 5. 8. Deri için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 5.14. Numunelerdeki As İçeriklerinin iki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması

Numune	GFAAS	HGAAS
Bağırsak	0.333 ± 0.015	0.150 ± 0.03
Solungaç	0.169 ± 0.012	0.163 ± 0.005
Kas	0.116 ±. 0.011	0.118 ± 0.03
Deri	0.308 ± 0.016	0.150 ± 0.05



Şekil 5. 9. İki yöntemin numunelerdeki As içeriklerinin karşılaştırılması

Tablo 5. 15. Balıkların dokularında arsenik birikimi sıralaması

GFAAS	Bağırsak > Deri > Solungaç> Kas
HGAAS	Solungaç >Bağırsak > Deri> Kas

GFAAS ve HGAAS yöntemlerinin sonuçlarının karşılaştırılması amacıyla istatistiksel analiz yapıldı. Bu amaçla ortalamaların karşılaştırılması yapılarak iki yöntem sonuçlarının birbirinden farklı olup olmadığı değerlendirildi.

$| Xort_1 - Xort_2 | \leq t\, s\, [(1/N_1) + (1/N_2)]^{1/2}$ ise iki yöntem arasında anlamlı bir fark yoktur.

$Xort_1$: GFAAS ortalaması

$Xort_2$: HGAAS ortalaması

t: İstatistiksel faktör

s: Standart sapma

N_1: GFAAS ölçüm sayısı

N_2: HGAAS ölçüm sayısı

Burada:

$$s = [(N_1 - 1)\,(s_1)^2 + (N_2 - 1)\,(s_2)^2 / (N_1 + N_2 - 2)]\ ½$$

$t = 2.00$ ($N_1 + N_2$ için %95 güvenirlik düzeyinde)

değerleri deneysel verilerden ve istatistik tablolardan hesaplanmaktadır (t değeri). Bağırsak için bu iki yöntemin karşılaştırılması bu formül kullanılarak aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

$$| 0.333 - 0.150 | < 2.00\, s\, [(1/11) + (1/11)]^{1/2}$$

$$\mathbf{s} = [(11 - 1)\,(0.015)^2 + (11 - 1)\,(0.030)^2 / (11 + 11 - 2)]\ ½$$

$s = 0{,}023$

$0.183 \leq (0.023)\ (2.00)\ (0.426)$

$0{,}183 < 0{,}019$

Deneysel ortalamaların farkının t'den hesaplanan değerden daha büyük olması iki yöntem arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Bu şekilde diğer organlardaki As sonuçlarının iki yöntemle karşılaştırılması Tablo 6.15'de yer almaktadır.

Tablo 5. 16. GFAAS ve HGAAS ölçüm sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması

Numune	**Arsenik**
Bağırsak	0,183 > 0,019
Solungaç	0,006 > 0,005
Kas	0,002 > 0,018
Deri	0,158 > 0,028

İki yöntemin ortalamalarının istatistiksel karşılaştırılması sonucu elde edilen verilere bakıldığında As sonuçlarının her iki yöntem için bütün doku numunelerinde birbiriyle uyumlu olmadığı tespit edilmiştir.

Deneysel hazırlıklar göz önüne alındığında analiz elementinin hidrürü oluşturularak matriksten ayrılarak analizlenmesi ve analizin oldukça hızlı olması HGAAS yöntemini GFAAS yöntemine daha üstün kılmaktadır. Arsenik sonuçlarının literatürlerleuyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak çalıştığımız bölgede gıda zincirinde yer almış olan ***Liza ramada*** (Risso, 1827) (Kefal)'in yenilebilir kas dokularındaki As konsantrasyonunun, literatürlerle benzer olduğu, HGAAS yönteminin, GFAAS yöntemi ile karşılaştırıldığında daha üstün olduğu ve kabul edilebilir limitlerin altında olduğu belirlendi.

Bu çalışma Gala Gölü'nde ***Liza ramada*** (Risso, 1827) (Kefal) balığındaki arsenik konsantrasyonları hakkında bilgi vererek, daha önce bu konuda çalışma yapılmadığı için bir eksiği tamamlamıştır.

Kaynakça

[1] N. Sisli, Ç***evre Bilim Ekoloji***,Gazi Büro Kitabevi Tic.Ltd. Sti, 492,(1999).

[2] H. Karadede, ***Atatürk Baraj Göl'ünde Su, Sediment ve Balık Türlerinde Ağır Metal Birikiminin Araştırılması***, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi,72, (1997).

[3] C.Beğenirbeş, **Porsuk Çayı (Kütahya Bölümü)'ndaki Tatlısu Midyesi (Uniosp.)'nde Bazı Ağır Metallerin Araştırılması**, Anadolu Üniversitesi, FenBilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı,Yüksek lisans tezi, 47, (2002).

[4] E.Şeker, H.Özmen, ve S. Aksoy, ***Elazığ Hazar Gölü'nden Yakalanan Capoeta Capoeta Umbla (Heckel, 1843)'da Ağır Metal Birikimlerinin Araştırılması***, F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi,10 (2), 13-20, (1998).

[5] M. Sarıeyüpoglu, H. Say,***Elazığ Şehir Kanalizasyonunun Baraj Göl'üne Döküldüğü Bölgeden Yakalanan Barbus Capito Pectoralis'de Ağır Metal Birikimlerini Araştırılması***,Su Ürünleri Sempozyumu, 121-130,(1991).

[6] E. Ünlü, I. Cengiz, E. O. Akba, ve B. Gümgüm, ***Dicle Nehrin'deki Capoeta Trutta Heckel, 1843'da Ağır Metal Birikimi***,II. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi Bildirileri, 639- 649, (1995).

[7] F. Kargın, ve C. Erdem, ***Accumulation of Copper in Liver, Spleen, Stomach, İntestine, Gill and Muscle of Cyprinus Carpio***, Doğa Tr. J. of Zoology, 15, 306-314, (1991).

[8] T. Şahin, ***Ağır Metallerin Tiyokarbohidrazon ile Spektrofotometrik Tayini***, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim DalıYüksek Lisans Tezi,5, (2011).

[9] O. Kahvecioglu, G. KartaL, A. Güven, S. Timur, ***Metallerin Çevresel Etkileri-***

I,Metalurji Dergisi,136, 44-56, (2002).

[10] Batkı ***HIV-positive persons; Alcoholism; Drug abuse; Medical care; Services for; Treatment*** United State1995

[11] E. Çalışkan, ***Asi Nehri'nde Su, Sediment ve Karabalık (Clarias Gariepinus Burchell, 1822)'ta Ağır Metal Birikiminin Araştırılması,*** Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Yüksek Lisansı.

[12] E. Yarsan, A. Bilgili, ve I. Türel, ***Van Gölü'nden Toplanan Midye (Unio Stevenianusb Krynicki) Örneklerindeki Ağır Metal Düzeyleri***, Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi,24,93-96, (2000).

[13] H. Karadede, ***Dicle Nehri'nde Su, Sediment ve Bentik Bazı Canlı Organizmalardaki Ağır Metal Birikiminin Araştırılması***, Dicle Üniversitesi Biyoloji Anabilimdalı DoktoraTezi, 17, (2002).

[14] O. Özdemir, ***Görünmeyen TehlikeAsit: yağmurları,*** Sağlık ve Toplum Dergisi,1, 3-11, (2005).

[15] A. G. Heath, ***Water Pollution and Fish Physiology***. CRP PressFlorida, 30, 245, (1987).

[16] I. Dökmeci,***Çevre Kirlenmesinde Rol Oynayan Toksik Maddeler***, 488, (1988).

[17] A. Çetinbaş, ***İzmit Körfezi'nde Avlanan İstavrit (Trachurus Trachurus L., 1758) Balıklarının Dokularında Cu ve Zn Birikiminin İncelenmesi,*** Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim DalıYüksek lisans tezi, (2003).

[18] B. Cicik, ***Bakır-Çinko Etkileşiminin Sazan (Cyprinus Carpio L.)'nın Karaciğer, Solungaç ve Kas DokularındakiMetal Birikimi Üzerine Etkileri,*** Ekoloji Çevre Dergisi**,** 12,48, 32-36, (2003).

[19] L. Bat, A. Gündoğdu,ve M. Öztürk, ***Ağır Metaller***, S.D.Ü. Eğirdir Su Ürünleri Fakülte Dergisi, 16\1, 166-175, (1998-1999).

[20] Cava monteinos ***Hydride generation atomic fluorescence spectrometric determination of ultratraces of selenium and tellurium in cow milk*** Anal. Chim. Acta 481 2003.

[21] B.K Mandal K.T. Suzuki ***Arsenic around the world: a review***. Talanta, Oxford 58 201-235 200.

[22] Brown ***intenation labour organization,*** 1998.

[23] A. (Özdağ) Höl, ***İnorganik Arsenik Deriştirilmesi ve Tayini***,Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek LisansTezi 18, Denizli (2005).

[24] A. Mizuike, ***Enrichment Techniques For Inorganic Trace Anaıysis***, Springer-Verlag Berlin, (1982).

[25] J. Marsh , *Edinburgh New Phil*. 21 229 1836.

[26] F.W. Alexander H.T. Delves ***Blood lead levels during pregnancy***. Int. Arch. Occup. Environ. Health 48 35 39 .1981.

[27] I. Bertini, H.B. Gray, S.J. Lippard, J. S. ***Valentine, In*** **Bioinorganic Chemistry** ***Mills Valley***, University Science Books USA 1994.

[28] C. Vandecasteele ve C. B. Block, ***Modern Methods for Trace Element Determination***, John Wiley & Sons Ltd Baffins Lane Chichester West Sussex England, (1993).

[29] M. E. Morgan, ***At. Absorb***. Newsletter, 3, 43-45. 1964.

[30] A. Duran, ***AAS ile tayin öncesi bazı ağır metallerin zenginleştirilmesi ve türlendirilmesi***, Doktora Tezi, Tokat 2010.

[31] D.A. Skoog, D.M. West, J.F. Holler, S.R. Crouch,***Analitik Kimya Temel İlkeler,***Bilim Yayıncılık, Ankara, 8, (2004).

[32] S. Baytak, ***Mn(II), Co(II), Fe(III) ve Cr (III) İyonlarının Mikroorganizma Tutturulmuş Amberlit XAD-4 Kullanılarak Katı Faz Özütleme Tekniği ile***

Zenginleştirme Şartlarının Araştırılması ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi İle Tayini, Ulusal Kimya Kongresi İstanbul, 10, (2003).

[33] A. Tunçeli, ***Bazı Eser Elementlerin Amberlit XAD-16 ile Zenginleştirme Şartlarının Araştırılması ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Tayini***, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi,(1991).

[34] G. Şeren, ***Bazı Eser Elementlerin Bentonit Üzerinde Zenginleştirilerek Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile Tayini,*** Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi, 25-52-53, (2000).

[35] D. A. Skoog, D.M West, F.J. Holler. ***Fundamentals of Analytical Chemistry***. Sounders Collage Publishing. Philadelphia, New York 1996.

[36] H.M. Kingston ***Overview of Microwave Assisted Sample Preparation***.Duquesne University. Pittsburgh. **1998.**

[37] A. Yıldız, Ö. Genç, ***EnstürmantaL Analiz***, Hacettepe Üniversitesi Basım Evi 181-205, (1993).

[38] M. Slavin, ***Atomic Absorption Spectrocopy, 2nd. E. Elving, PJ. Winefordner J.D.John Wiley and Sons,****New York* (1978).

[39] S. Akman, ***Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Grafit Fırında (HGA-74) Atomlaşma Mekanizmasının İncelenmesi***,Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, (1980).

[40] B. Welz, ***Atomic Absorption Spectrometry,*** Verlag Chemie Weinheim, 145 , (1985).

[41] Y. Bakırcıoglu, ***Bazı Eser Elementlerin Deta (Dietilentriamin) Polimeri Üzerinde Zenginleştirilerek Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile Tayini***, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri EnstitüsüDoktora Tezi, 241,52-53-55-56-59, (2000).

[42] O. Göçer, ***Co(II), Ni(II), Cr(III) ve Cr(VI) Elementlerinin Adsorpsiyonla***

Zenginleştirilmesi ve Grafit Fırınlı AAS ile Tayini, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 19-21-25, (1995).

[43] A. Paschen, ***Physik***, 50,901, (1916).

[44] W. G. Jones, A. Walsh, ***Spectrochim. Acta***, 16, (1960).

[45] B. J. Russell, A. Walsh, ***Spectrochim. Acta***, 10, (1959).

[46] M. İnce, ***Ultra Eser Düzeydeki Ağır Metallerin Amberlite-XAD ile Önderiştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresiyle Tayini,*** Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi***,****Elazığ* 47-54-55-66, (2005).

[47] Schuetz M**.** ***Investigations into the effect of the correction for background absorption in continium souce atomic absorption***, *Ph. D.Thesis,* Technical University of Berlin, Germany 1997.

[48] Ç. Er, ***Ultraeser Düzeydeki Ağır Metallerin Katı Faz Ekstraksiyonuyla Polimerik Reçine Üzerinde Önderiştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon SpektrofotometresiyleTayini***, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri EnstitüsüYüksek Lisans Tezi, 15, (2011).

[49] A. Baysal, ***Slurry Tekniği ile Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ile Tayini,*** İTÜ Fen BİlimleriEnstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (2005).

[50] D.A.Skoog, F.J.Holler, T.A.Niemann, ***Principles of Instrumental Analysis***, 1998

[51] E. Birlik, ***Preconcentratıon of Trace Elements Usıng Molecular Imprıntıng Polymers and Analysis by Flame Atomic Absorption Spectroscopy***, Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 53, (2003).

[52] H. J. Lauri P. Lajunen, ***Perämäki pectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission,*** (1992).

[53] J. Dedina, D.L. Tsalev, ***Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry***, John Wiley and Sons Ltd United Kingdom,274, (1995).

[54] K. Kan, ***An Automated Method for the Determination of As and Sb,***Analytical Letters, 603, (1973).

[55] O. Aström, ***Flow Injection Analysis for Determination of Bi by AAS with HG***, Analytical Chemistry, 54, 190-193, (1982).

[56] E. Erol, ***Tavuk Eti Yemi ve Yumurtasında Hidrür Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi İle Selenyum Tayini***, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri EnstitüsüYüksek Lisans Tezi, 30, (2006).

[57] Y. Madrid, C. Camara, ***Lead Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry: An Alternative to Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry***, Analyst 8, 119, (1994).

[58] M.A. Alvarez, N. Carrion, H. Gutierrez, ***Effects of Atomization Surfaces and Modifiers on the Electrothermal Atomization of Cadmium, Spectrochim***, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy,50, (1995).

[59] R.C. Chu, G.P. Barron, P.A.W., ***Baumgarner As Determination at Submicrogram Levels by Arsine Evolution and Flameless AA Spectrometric Technique Anal. Chem.,*** 44, (1972).

[60] K.C. Thompson, D.R. Thomerson, ***AA Studies on the Determination of Sb, As, Bi, Ge, Pb, Se, Te And Sn by Utilizing the Generation of Covalent Hydrrides***, , Analyst, 99, (1974).

[61] T. Nakahara Prog Anal. Atom. Spectrosc. 6, 163, (1983).

[62] R. C. Chu, G. P. Barron, P. A. W. Baumgarner, ***Arsenic Determination at Sub Microgram Levels by Arsine Evolution and Flameless Atomic Absorption Spectrophotometric Technique***, Anal. Chem 44, 1476-1479, (1972).

[63] Dr. Lide ***CRC handbook of chemistry and physics 74th*** edn. CRC Press,(1994).

[64] X. Hou, ***The integument of Cambrian chancelloriids,*** Acta Palaeontologica Polonica 46, (2001).

[65] X. Hou, B.T. Jones, ***Tungsten devices in analytical atomic spectrometry,*** Spectrochimica Acta Part B, Oxford 57, 659-688, (2002).

[66] F. D. Pierce H. R. Brown, ***Comparison of inorganic interferences in atomic absorption spectrometric determination of arsenic and selenium*** *Anal. Chem.* 69, (1977).

[67] DSİ, ***Gala Gölündeki Sorunların Çözüm Yolları Üzerinde Araştırmalar. (1.Yıl Çalışma Planı).*** T.C. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı, DSİ Genel Müdürlüğü, İşletme ve Bakım Dairesi Başkanlığı, Ankara, (2001).

[68] Ramsar Şözleşmesi, (2009).

[69] M. Yarar ve G. Magnin, ***Türkiye'nin Önemli Kuş Alanları,*** Doğal Hayatı Koruma Derneği Ana Basım A.Ş. İstanbul,(1997).

[70] M. Gürnil, ***Enez ve Çevresi Toprakları***. Gala Gölü ve Sorunları Sempozyumu. Doğal Hayatı Koruma Derneği Bilimsel Yayın Serisi. Kıral Matbaası, (1989).

ÖZGEÇMİŞ

15.07.1988 yılında Kırklareli'de doğdu. 2005 yılında Babaeski lisesini bitirdi. 2006 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı ve 2010 yılında bu bölümden mezun oldu. Aynı yıl Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik kimya dalında yüksek lisansa başladı ve aynı yıl Mastaş Türedi Gıda San. Ltd. Şti. de sorumlu yönetici olarak çalışmaya başladı ve burada 1 yıl çalıştı. Şu anda Laurus İlaç Fabrikası kalite kontrol laboratuvarında çalışmakta.